

Prävalenz der Cyclooxygenase-2
bei intranasalen Tumoren des Hundes und
klinische Untersuchungen zur palliativen Therapie
intranasaler Neoplasien mit Meloxicam und
hypofraktionierter Strahlentherapie

ANNALENA MICHEL



INAUGURAL-DISSERTATION zur Erlangung des Grades eines **Dr. med. vet.**
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2012

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2012

© 2012 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus dem Klinikum Veterinärmedizin
Klinik für Kleintiere, Chirurgie,
der Justus-Liebig-Universität Gießen
Betreuerin: PD Dr. Sabine Tacke
und
der Tierärztlichen Klinik für Kleintiere Hofheim

**Prävalenz der Cyclooxygenase-2 bei intranasalen Tumoren
des Hundes und klinische Untersuchungen zur palliativen
Therapie intranasaler Neoplasien mit Meloxicam und
hypofraktionierter Strahlentherapie**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

ANNALENA MICHEL
Tierärztin aus Herborn

Gießen 2012

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan:

Prof. Dr. Dr. h. c. M. Kramer

Gutachter:

PD Dr. S. Tacke

Prof. Dr. Dr. h. c. mult. H. Bostedt

Tag der Disputation:

04.Juni 2012

Meiner Familie in Liebe und Dankbarkeit

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis.....	IV
1 Einleitung und Zielsetzung	1
2 Literaturübersicht.....	3
2.1 <u>Intranasale Tumoren des Hundes</u>	3
2.1.1 Überblick und Begriffsdefinition.....	3
2.1.2 Epidemiologie.....	4
2.1.2.1 Prävalenz.....	4
2.1.2.2 Rassedisposition	4
2.1.2.3 Altersverteilung.....	4
2.1.2.4 Geschlechtsdisposition.....	5
2.1.3 Ätiologie	5
2.1.4 Klinisches Erscheinungsbild.....	6
2.1.4.1 Lokalisation und Wachstumsverhalten	6
2.1.4.2 Klinische Symptomatik	6
2.1.4.3 Metastasierungsrate	8
2.1.5 Stadieneinteilung sinonasaler Tumoren	9
2.1.6 Diagnostik	11
2.1.6.1 Bildgebende Diagnostik.....	11
2.1.6.1.1 Röntgenologische Untersuchung	11
2.1.6.1.2 Computertomographie und Magnetresonanztomographie	12
2.1.6.1.3 Rhinoskopie	14
2.1.6.2 Biopsie.....	14
2.1.6.3 Metastasenscreening	15
2.1.7 Differentialdiagnosen	15
2.1.8 Therapie.....	16
2.1.8.1 Chirurgische Therapie	16
2.1.8.2 Bestrahlungstherapie.....	17
2.1.8.3 Chemotherapie.....	25
2.1.8.4 Sonstige Therapieformen	26
2.1.8.4.1 Immuntherapie	26
2.1.8.4.2 Fotodynamische Therapie.....	26
2.1.9 Prognose.....	27
2.1.9.1 Überlebenszeit.....	27
2.1.9.2 Rezidivrate.....	28
2.1.9.3 Metastasierungsrate	29
2.2 <u>Das Enzym Cyclooxygenase</u>	30
2.2.1 Definition	30
2.2.2 Biologische Funktionen	30
2.2.2.1 Endprodukte der Cyclooxygenase.....	30
2.2.2.2 Cyclooxygenase-1 (COX-1).....	31
2.2.2.3 Cyclooxygenase-2 (COX-2).....	32
2.2.3 Expression von COX-2 durch Tumoren	33
2.2.3.1 COX-2 Expression im Rahmen der Kanzerogenese	33
2.2.3.1.1 Kanzerogene Wirkungsweise der COX-2.....	33
2.2.3.2 Tumoren mit COX-2 Expression.....	36
2.2.3.2.1 COX-2 Expression durch kanine intranasale Karzinome.....	38
2.2.3.2.2 COX-2 Expression durch andere kanine Neoplasien	40

2.2.4	Cyclooxygenase-Inhibitoren	44
2.2.4.1	Historie	44
2.2.4.2	Definition und Wirkungsweise.....	45
2.2.4.3	Nebenwirkungen.....	48
2.2.4.4	Wechselwirkungen	49
2.2.4.5	Antineoplastische Wirkungsweise der NSAIDs.....	49
2.2.4.6	NSAID-Einsatz in der Tumorthherapie	52
2.3	<u>Strahlentherapie</u>	58
2.3.1	Definition	58
2.3.2	Physikalische Aspekte der Strahlentherapie	58
2.3.2.1	Strahlenart.....	58
2.3.2.2	Energiedichte der Strahlung	59
2.3.3	Biologische Aspekte der Strahlentherapie	60
2.3.3.1	Wirkungsmechanismus	60
2.3.3.2	Antitumoröse Wirkung	62
2.3.3.3	Gesamtbehandlungszeit.....	63
2.3.3.4	Gesamtbestrahlungsdosis und Fraktionierung	64
2.3.3.5	Bestrahlungsprotokolle	66
2.3.3.6	Nebenwirkungen.....	66
2.3.4	Kombination einer Bestrahlung mit NSAIDs.....	69
2.4	<u>Immunhistochemie</u>	71
2.4.1	Definition und Wirkungsweise	71
2.4.2	Auswertung	71
2.4.3	Immunhistochemischer Nachweis der Cyclooxygenase	72
2.4.4	Vergleich Western Blot – Immunhistochemie.....	73
3	Eigene Untersuchungen	75
3.1	<u>Material und Methoden</u>	75
3.1.1	Immunhistochemische Studie	75
3.1.1.1	Probengut.....	75
3.1.1.2	Färbemethode	76
3.1.1.3	Auswertungsschema	77
3.1.2	Klinische Anwendungsstudie.....	80
3.1.2.1	Tierversuchsanzeige	80
3.1.2.2	Patientengut, Einschluss- und Ausschlusskriterien	80
3.1.2.3	Klinische Diagnostik	80
3.1.2.4	Anästhesie.....	84
3.1.2.5	Technische Geräte	84
3.1.2.6	Bildgebende Diagnostik und Stadieneinteilung.....	85
3.1.2.7	Tumorhistologie	87
3.1.2.8	Therapieplan.....	88
3.1.2.9	Nachkontrollen.....	89
3.1.2.10	Überlebenszeit und progressionsfreie Zeit	94
3.1.2.11	Statistische Auswertung	94
3.2	<u>Ergebnisse</u>	99
3.2.1	Immunhistochemische Studie	99
3.2.1.1	Statistische Auswertung	105
3.2.2	Klinische Anwendungsstudie.....	108
3.2.2.1	Patientengut	108
3.2.2.2	Klinische Initialbefunde.....	110
3.2.2.3	Biopsieergebnisse und COX-2 Diagnostik.....	115

3.2.2.4	Stadieneinteilung	121
3.2.2.5	Therapiedurchführung	127
3.2.2.6	Nachkontrollen.....	130
3.2.2.6.1	Überblick in Bezug auf die klinische Symptomatik	141
3.2.2.7	Überblick in Bezug auf das Tumorzvolumen	150
3.2.2.8	Überblick in Bezug auf das Tumorstadium	153
3.2.2.8.1	Bestrahlungsnebenwirkungen	157
3.2.2.9	Progressionsfreie Zeit.....	160
3.2.2.10	Überlebenszeit.....	170
3.2.2.11	Statistische Zusammenhangsanalyse	178
4	Diskussion	184
4.1	<u>Immunhistochemische Studie</u>	184
4.2	<u>Klinische Anwendungsstudie</u>	189
4.2.1	Patientengut.....	189
4.2.2	Klinische Initialbefunde	191
4.2.3	Tumorhistologie und tumoreigene COX-2 Expression	194
4.2.4	Tumorklassifikation und -stadium	204
4.2.5	Therapieplan	207
4.2.6	Nachkontrollen und Therapieergebnisse	211
4.2.6.1	Klinische Symptomatik	212
4.2.6.2	Tumorzvolumen.....	215
4.2.7	Nebenwirkungen	222
4.2.8	Progressionsfreie Zeit	227
4.2.9	Überlebenszeit	229
4.3	<u>Bewertung und Schlussfolgerung</u>	238
5	Zusammenfassung	240
6	Summary	242
7	Literaturverzeichnis	244
8	Abbildungsverzeichnis	262
9	Tabellenverzeichnis	263
10	Anhang	265
10.1	<u>Weiterführende Tabellen</u>	265
11	Erklärung	290
12	Danksagung	291

Abkürzungsverzeichnis

A	Auge
AB	Allgemeinbefinden
ACA	Adenokarzinom
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
AEC	3-Amino-9-Ethylcarbazol
ALKP	Alkalische Phosphatase
ALT	Alanin Aminotransferase
B	Bilateral
BS	Biopsiestelle
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
ca.	Circa
CA	Karzinom
cm	Zentimeter
CSA	Chondrosarkom
CT	Computertomographie
D	Dorsal
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ECVP	European College of Veterinary Pathology
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EGF	Epidermal Growth Factor
EGR-1	Early growth response-1
etc.	Et cetera
FAP	Familiäre Adenomatöse Polyposis
FGF	Fibroblast Growth Factor
ggf.	Gegebenenfalls
ggr	geringgradig
γ-GT	Gamma-Glutamyltransferase
GLDH	Glutamatdehydrogenase
Gy	Gray
H	Hämorrhagisch
H&E	Haematoxinilin & Eosin
Her-2	Human epidermal growth factor-2
hgr	hochgradig
IBD	Inflammatory Bowel Disease
IL-1 α	Interleukin-1 α
IL-6	Interleukin-6
Inc.	Incorporated
i.v.	Intravenös
KCS	Keratokonjunktivitis sicca
keV	Kiloelektronenvolt
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KM	Kontrastmittel
KP	Kribriforme Platte
L	Links
LL	Links lateral

L-MTP-PE	Liposomales Muramyl Tripeptid Phosphatidyl Ethanolamin
m	Männlich
M	(Fern)Metastase
mA	Milliampere
MDR-1	Multi Drug Resistance-1
MeV	Megaelektronenvolt
mg	Milligramm
mgr	Mittelgradig
min	Minute
mk	Männlich kastriert
MMP-2/-9	Matrix-Metalloproteinase-2/-9
Mo	Monate
Mol	Molar
MRT	Magnetresonanztomographie
N	Lymphknoten(metastase)
NA	Nasenausfluss
NAG-1	NSAID-activated gene-1
NCI	National Cancer Institute
NP	Nasopharynx
NR	Nasenrücken
Nr.	Nummer
NS	Nasenspiegel
NSAID	Nicht-steroidales Antiphlogistikum
NSE	Neuronenspezifische Enolase
nz	Nicht zutreffend
O	Orbita
OSA	Osteosarkom
P	Purulent
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PFZ	Progressionsfreie Zeit
PGA ₂	Thromboxan
PGE ₂ ; PGF _{2α} ; PGD ₂	Prostaglandin-E ₂ ; -F _{2α} ; -D ₂
PGI ₂	Prostazyklin
PH	Purulent-hämorrhagisch
PM	Prämolar
ras	Rat sarcoma
R	Rechts
RL	Rechts lateral
RECIST	Response Evaluation Criteria in Solid Tumours
S	Serös
SA	Sarkom
SCC	Plattenepithelkarzinom
SDS-PAGE	Sodiumdodecylsulfat-Polyacrylamid Gel
SF	Sinus frontalis
SH	Serös-hämorrhagisch
SK	Subkutis
SM	Submukosa
STT	Schirmer Tränentest
T	(Primär)Tumor

TCC	Übergangsepithelkarzinom
TGF- β	Transforming Growth Factor- β
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
UL	Unilateral links
Undiff.	Undifferenziert
UR	Unilateral rechts
ÜZ	Überlebenszeit
V.a.	Verdacht auf
v.a.	Vor allem
VDH	Verband für das Deutsche Hundewesen
w	weiblich
WHO	World Health Organisation
wk	Weiblich kastriert
VEGF	Vascular endothelial growth factor
vs.	Versus
z.B.	Zum Beispiel
=	Gleich
>	Größer
<	Kleiner
\geq	Größer/gleich
\leq	Kleiner/gleich

1 EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

Neoplasien der Nasen- und Nasennebenhöhlen bei Hunden stellen eine therapeutische Herausforderung dar, da sie zum Diagnosezeitpunkt in der Regel bereits weit fortgeschrittenen und meist nur temporär in ihrer Progression beeinflussbar sind. Vordergründige Ursachen für das fortgeschrittene Tumorstadium bei Konsultation eines Tierarztes sind die meist kaudal in der Nasenhöhle lokalisierte Tumorgenese, die damit äußerlich nicht ersichtlich ist, sowie die nur langsam progressive und relativ unspezifische nasale Symptomatik (WILLARD und RADLINSKY, 1999).

Die Therapie der intranasalen Tumoren wurde in den letzten Jahren durch zahlreiche Untersuchungen immer weiter optimiert, wobei eine Strahlentherapie weiterhin das Mittel der Wahl darstellt. Die medianen Überlebenszeiten von etwa zwölf Monaten im Rahmen von „kurativen“ Bestrahlungen sind jedoch in Relation zum Therapieaufwand und den zu erwartenden Nebenwirkungen nicht immer zufriedenstellend. Eine Heilung ist in der Regel nicht zu erzielen (PATNAIK, 1989; RASSNICK et al., 2006). Insbesondere bei weit fortgeschrittenen Tumorstadien weist daher eine palliative, hypofraktionierte Bestrahlung häufig ein günstigeres Verhältnis von Nutzen zu Aufwand bzw. Belastung für Patient und Besitzer auf (MORRIS et al., 1994; MELLANBY et al., 2002; GIEGER et al., 2008). Zur Verbesserung der Bestrahlungswirkung oder Reduktion der Nebenwirkungen sind in den letzten Jahren unter anderem verschiedene adjuvante Therapieansätze untersucht worden. Der Einsatz einer adjuvanten systemischen Chemotherapie mit Carboplatin führte in einer prospektiven Studie zu keiner Wirkungsverbesserung der hypofraktionierten Bestrahlung (SCHWIETZER, 2008). Lediglich der Einsatz eines intramuskulären Cisplatin „slow-release“ Systems, das zu einer kontinuierlichen Cisplatinfreisetzung über drei Wochen führt, erzielte als adjuvante Therapie zu einer kurativen Bestrahlung eine Verbesserung der Überlebenszeiten (LANA et al., 2004). Zur Verbesserung der Nasentumorthherapie bei Hunden wird daher weiterhin nach erfolgsversprechenden adjuvanten Therapieoptionen gesucht.

Aufgrund des Vorliegens zahlreicher Hinweise auf eine tumorassoziierte Überexpression des Enzyms Cyclooxygenase-2 (COX-2), vor allem in malignen

epithelialen Tumoren, und damit einhergehender Förderung der Kanzerogenese (FLORY und LE BLANC, 2005; HAYES, 2007) sowie zahlreichen Untersuchungen und klinischen Erfahrungen, die gezeigt haben, dass Karzinome die vorrangige Tumorart in der Nasenhöhle darstellen (MADEWELL et al., 1976; MAC EWEN et al., 1977; CONFER et al., 1978; PATNAIK, 1989; RUSSO et al., 2000; LEFEBVRE et al., 2005), wurden auch hier bereits immunhistochemische Untersuchungen hinsichtlich der Expression des Enzyms COX-2 durchgeführt (BORZACCHIELLO et al., 2004; KLEITER et al., 2004; IMPELLIZERI und ESPLIN, 2007). Dabei zeigte sich, dass mit 71% bis 87% der untersuchten Proben ein hoher Anteil COX-2 exprimierender Karzinome vorliegt. Eine differenzierte Betrachtung der COX-2 Expression bei einer größeren Anzahl unterschiedlicher intranasaler Karzinom-Subtypen sowie nicht-epithelialen Tumoren liegt bislang nicht vor. Basierend auf den bisherigen publizierten Ergebnissen erscheint es jedoch sinnvoll, den klinischen Einsatz eines COX-2 Hemmstoffs zur adjuvanten Therapie von Nasenhöhlelntumoren zu untersuchen.

Auf der Grundlage dieser Ergebnisse verfolgt die vorliegende Studie zwei Ziele:

- 1) Die immunhistochemische Beurteilung der COX-2 Expression in einer größeren Anzahl kaniner intranasaler Tumoren. Durch umfangreichere Fallzahlen soll eine differenzierte Betrachtung der Expressionsintensität verschiedener Neoplasien sowohl epithelialen als auch nicht-epithelialen Ursprungs möglich sein.
- 2) Die klinische Beurteilung eines adjuvanten Therapieansatzes mit einem Cyclooxygenasehemmstoff (Meloxicam) in Kombination mit einer hypofraktionierten, palliativen Bestrahlung von kaninen Nasentumoren, sowohl hinsichtlich der Verbesserung der klinischen Symptomatik als auch der Überlebenszeit.

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Intranasale Tumoren des Hundes

2.1.1 Überblick und Begriffsdefinition

Intranasale Tumoren umfassen eine Vielzahl von Neoplasien, die ihren Ursprung innerhalb der Nasen- oder Nasennebenhöhle nehmen. Mindestens vier Fünftel dieser Tumoren zeigen ein malignes Erscheinungsbild und Wachstumsverhalten (MADEWELL et al., 1976). Die histologische Zuordnung der Tumorart erfolgt anhand der *World Health Organization (WHO) International Histological Classification of Tumors of the Respiratory System of Domestic Animals* (DUNGWORTH et al., 1999). Dabei überwiegen mit nahezu zwei Dritteln maligne epitheliale Tumoren (MADEWELL et al., 1976; MAC EWEN et al., 1977; CONFER et al., 1978; PATNAIK, 1989; RUSSO et al., 2000; LEFEBVRE et al., 2005). Diese Gruppe setzt sich überwiegend aus Adeno-, Plattenepithel- und Übergangsepithelkarzinomen sowie undifferenzierten Karzinomen zusammen (AUPPERLE et al., 2011). In früheren Studien wurden Übergangsepithelkarzinome als nicht-keratinisierende Plattenepithelkarzinome bezeichnet. Die am häufigsten diagnostizierten epithelialen Tumoren sind Adenokarzinome (MAC EWEN et al., 1977; PATNAIK, 1989; LEFEBVRE et al., 2005; RASSNICK et al., 2006; KONDO et al., 2008). In der Häufigkeit folgen mit knapp einem Drittel maligne mesenchymale Tumoren (LEFEBVRE et al., 2005). Zu dieser Gruppe gehören überwiegend Chondro-, Fibro- und Osteosarkome sowie Hämangiosarkome und undifferenzierte Sarkome (AUPPERLE et al., 2011). Innerhalb der Sarkome überwiegt das Chondrosarkom am deutlichsten (PATNAIK, 1989; KONDO et al., 2008).

Ästhesioneuroblastome (olfaktorische Neuroblastome) und weitere maligne Tumorarten, vor allem Rundzelltumoren (z.B. malignes Lymphom, Sticker Sarkom, Mastzelltumor, malignes Melanom), stellen insgesamt einen geringen Anteil an den sinonasalen Tumoren des Hundes (WITHROW und VAIL, 2007). Ästhesioneuroblastome entstehen im Bereich der olfaktorischen Zellen, wobei unklar ist, ob sie von olfaktorischen Neuroepithelien, Resten der Neuralleiste oder dem neuroendokrinen System abstammen (AUPPERLE et al., 2011). Über die Inzidenz

beim Hund ist wenig bekannt. Sie scheint jedoch ähnlich gering wie beim Menschen zu sein, bei dem sie etwa 3% aller Nasentumoren ausmacht (LIEBLER et al., 2006). Sehr selten kommen benigne Tumoren, wie Adenome oder Polypen, vor (PATNAIK, 1989; WITHROW und VAIL, 2007).

2.1.2 Epidemiologie

2.1.2.1 Prävalenz

Intranasale Tumoren nehmen einen Anteil von 0,3-2,4% an allen kaninen Neoplasien ein (MADEWELL et al., 1976; MAC EWEN et al., 1977; HAYES et al., 1982; PATNAIK, 1989). Ihr Anteil an den Tumoren des Respirationstraktes liegt bei etwa 60-80% (AUPPERLE et al., 2011).

2.1.2.2 Rassedisposition

Es existieren zahlreiche Studien, die eine Disposition für dolichocephale Rassen aufzeigen (HAYES et al., 1982; BUKOWSKI et al., 1998; KONDO et al., 2008). In einigen Studien liegt eine Disposition für Rassen wie den Deutschen Schäferhund, Retriever, Airedale Terrier, Basset, Pudel, Irish Setter oder Collie vor (CONFER et al., 1978; HAYES et al., 1982; LAING et al., 1988; EVANS et al., 1989; PATNAIK, 1989; MELLANBY et al., 2002; RASSNICK et al., 2006; IMPELLIZERI und ESPLIN, 2007; KONDO et al., 2008). In einer Untersuchung von ADAMS et al. (1998) waren Labrador Retriever mit 29% signifikant überrepräsentiert. Bei Evaluierung einer größeren Fallzahl reinrassiger Hunde mit Nasentumoren stellten Retriever, Schäferhunde und Springer Spaniel 48% der Patienten (YOON et al., 2007). Insgesamt scheinen große und mittelgroße Rassen häufiger betroffen zu sein (BRADLEY und HARVEY, 1973; MADEWELL et al., 1976; MAC EWEN et al., 1977; NORTHROP et al., 2001; MELLANBY et al., 2002; WITHROW und VAIL, 2007; SCHWIETZER, 2008).

2.1.2.3 Altersverteilung

Die Diagnose eines intranasalen Tumors wird meist bei Hunden mittleren bis höheren Alters gestellt. Das durchschnittliche Alter bei Auftreten einer solchen Neoplasie liegt bei acht bis elf Jahren (BRADLEY und HARVEY, 1973; MADEWELL et al., 1976; MAC EWEN et al., 1977; CONFER et al., 1978; EVANS et al., 1989; HENRY et al., 1998; RUSSO et al., 2000; LANA et al., 2004; LEFEBVRE et al., 2005;

RASSNICK et al., 2006; YOON et al., 2007; KONDO et al., 2008; MELER et al., 2008; SCHWIETZER, 2008; MARUO et al., 2010). In einer Studie von PATNAIK (1989) wurde auffällig, dass Hunde mit Chondrosarkomen signifikant jünger waren als Patienten mit anderen intranasalen Tumorarten. Erstere wiesen in dieser Studie ein Durchschnittsalter von sieben Jahren auf, während Patienten mit anderen Tumorarten im Mittel neun Jahre alt waren.

2.1.2.4 Geschlechtsdisposition

In einer Untersuchung an 504 Patienten mit intranasalen Karzinomen konnte eine Disposition für männliche Hunde festgestellt werden. Diese wiesen im Vergleich zu weiblichen Tieren ein 1,3-fach erhöhtes Risiko auf, an einem intranasalen Tumor zu erkranken (HAYES et al., 1982). Auch PATNAIK (1989) und RUSSO et al. (2000) konnten eine Prädominanz männlicher Tiere von 64,2% und 67% feststellen. Diese höhere Prävalenz bei männlichen Individuen liegt auch in der Humanmedizin vor, wobei hier ein Zusammenhang mit Expositionsdifferenzen gegenüber Risikofaktoren hergestellt wurde (HOLMILA et al., 2008). In anderen tiermedizinischen Studien lag hingegen kein signifikanter Unterschied in der Geschlechterverteilung vor (MADEWELL et al., 1976; MAC EWEN et al., 1977; EVANS et al., 1989; MORRIS et al., 1994; RASSNICK et al., 2006; SCHWIETZER, 2008).

2.1.3 Ätiologie

Bisher existieren keine gesicherten Erkenntnisse über die Ätiologie intranasaler Tumoren des Hundes, es werden jedoch exogene Einflussfaktoren vermutet. Aus der Humanmedizin ist bekannt, dass Raucher ein erhöhtes Risiko für sinonasale Tumoren, insbesondere Plattenepithelkarzinome, aufweisen (REIF et al., 1998; HOLMILA et al., 2008). Bei Adenokarzinomen hingegen konnte ein Zusammenhang mit einer Holzstaub-Exposition hergestellt werden (HOMILA et al., 2008).

Analog dazu liegen aus einigen Untersuchungen Hinweise vor, dass auch bei Tieren aus Raucherhaushalten und aus urbanen Gebieten eine höhere Prävalenz sinonasaler Tumoren vorliegt (HAYES et al., 1982; PATNAIK et al., 1984; REIF et al., 1998).

Eine Untersuchung von BUKOWSKI et al. (1998) deutet auf ein erhöhtes Risiko durch Kohle- und Kerosinöfen im Lebensumfeld der Hunde hin. Dabei konnte jedoch kein erhöhtes Risiko durch Tabakrauch oder ein industriell geprägtes Lebensumfeld festgestellt werden.

Als Ursache für das erhöhte Risiko dolichocephaler Rassen wird die größere Nasenschleimhautoberfläche vermutet, über die kanzerogene Substanzen verstärkt einwirken können (REIF et al., 1998).

2.1.4 Klinisches Erscheinungsbild

2.1.4.1 Lokalisation und Wachstumsverhalten

Meist nehmen intranasale Tumoren ihren Ursprung im kaudalen Drittel der Nasenhöhle (WILLARD und RADLINSKY, 1999). Mit fortschreitendem Tumorwachstum werden auch kraniale Bereiche involviert und es kann zu einer Destruktion der Nasenscheidewand mit Ausdehnung des Tumors auf die kontralaterale Nasenhöhle kommen. Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung liegt bei etwa der Hälfte der Patienten bereits ein bilateraler Nasentumor vor (PATNAIK, 1989).

Das biologische Verhalten der intranasalen Tumoren hängt stark von der Dignität ab. Maligne Tumoren zeigen in der Regel eine ausgeprägte Invasivität in die Umgebungsstrukturen, wobei häufig auch Knochengewebe destruiert wird (WITHROW und VAIL, 2007). Die Osteolysen zeigen sich zunächst insbesondere an den dünnen Turbinalia, die die knöcherne Grundlage der Nasenmuscheln bilden. Aber auch das chondroide Septum nasale und die dünne knöcherne kribriiforme Platte sowie die umgebenden Schädelknochen können destruiert werden. Eine Invasion in das angrenzende Riechhirn ist am häufigsten bei neuroepithelialen Tumoren sowie Plattenepithel- und Übergangsepithelkarzinomen zu finden (PATNAIK, 1989).

2.1.4.2 Klinische Symptomatik

Für die klinische Symptomatik sind vor allem die Zerstörung der Naseninnenstrukturen und die sich sekundär entwickelnden Infektionen verantwortlich. Die häufigsten Symptome bei Konsultation des Tierarztes sind mukopurulenter Nasenausfluss oder Epistaxis, vermehrtes Niesen und Zubildungen im Nasenrückenbereich (MAC EWEN et al., 1977; CONFER et al., 1978; EVANS et al., 1989; PATNAIK, 1989; MELLANBY et al., 2002; RASSNICK et al., 2006; GIEGER et al., 2008; KONDO et al., 2008; MELER et al., 2008; SCHWIETZER, 2008; MARUO et al. 2010). Die Diagnose eines Nasentumors wird durchschnittlich zwei bis drei Monate nach Symptombeginn gestellt (BRADLEY und HARVEY, 1973;

MADEWELL et al., 1976; MAC EWEN et al., 1977; MELLANBY et al., 2002; RASSNICK et al., 2006; GIEGER et al., 2008; MARUO et al., 2010).

Der Nasenausfluss tritt in der Regel zunächst unilateral auf und ist anfangs von serösem, später auch mukösem Charakter. Zudem kann Epistaxis bereits früh im Verlauf der Erkrankung auftreten (WITHROW und VAIL, 2007). Durch bakterielle Sekundärinfektionen bekommt der Nasenausfluss später häufig einen purulenten Charakter und kann durch weitere Gewebedestruktion letztendlich hämorrhagisch werden (KNOTEK et al., 2001). Durch die Destruktion der Nasenscheidewand und die Tumorausdehnung auf die kontralaterale Nasenhöhle tritt der Nasenausfluss im weiteren Verlauf meist bilateral auf. Die Irritation der Nasenschleimhaut führt oft zu starkem und vermehrtem Niesen. Durch die Obstruktion der luftführenden Wege kommt es zudem zu nasalem Stridor, Röcheln oder Würgen. Dies zeigt sich insbesondere in den Schlafphasen oder in Seitenlage sowie bei Anstrengung (KNOTEK et al., 2001).

Abhängig von weiteren betroffenen Strukturen können zusätzliche Symptome auftreten. Durch eine Destruktion des Nasenhöhlenbodens und Osteolyse der Maxilla kann es zur Zahnlockerung und zum Zahnverlust, Störungen der Futteraufnahme und unter Umständen zu Blutungen aus der Mundhöhle kommen. Bei Durchbruch des Tumors in den Retrobulbärraum ist im Rahmen der klinischen Untersuchung häufig eine verminderte Retropulsion des Bulbus palpabel, zudem kann Epiphora oder ein Exophthalmus feststellbar sein. Epiphora kann zudem durch eine Dakryostenose oder –obstruktion infolge der neoplastischen Zubildung vor allem im Bereich des intranasalen Ausführungsgangs auftreten (WITHROW und VAIL, 2007).

Bei Involvierung des Riechhirns durch Destruktion der kribriiformen Platte kann es zu neurologischen Symptomen kommen. In diesem Zusammenhang können epileptische Anfälle auftreten, die auch als alleiniges Symptom bei kaudal gelegenen intranasalen Tumoren vorliegen können (SMITH et al., 1989). In einer Untersuchung von PATNAIK (1989) wurden bei 18,3% der Hunde mit Nasentumoren Krampfanfälle beobachtet. Häufig sind jedoch trotz Invasion des Riechhirns keine neurologischen Symptome zu beobachten (WITHROW und VAIL, 2007).

Ein für den Patientenbesitzer sehr auffälliges Symptom ist das Auftreten einer subkutanen Zubildung auf dem Nasenrücken, die durch eine Knochendestruktion mit Vordringen des Tumors in die Unterhaut bedingt ist. Dieser Befund ist besonders häufig bei Vorliegen eines Chondro- oder Osteosarkoms zu erheben (PATNAIK, 1989).

Eine deutliche Störung des Allgemeinbefindens in Form von Apathie, Inappetenz oder Aggressivität ist nur selten zu beobachten und beschränkt sich meist auf den späten Verlauf der Erkrankung. In manchen Fällen ist jedoch eine Dolenz im Bereich involvierter Strukturen oder bei der Futteraufnahme zu beobachten. Hämatologische oder klinisch-chemische Veränderungen sind sehr selten und meist nicht primär durch den Nasentumor verursacht (WITHROW und VAIL, 2007). Es existieren nur sehr wenige Fallberichte über paraneoplastische Symptome in Form einer Erythrozytose oder Hyperkalzämie (WILSON et al., 1983; COUTO et al., 1989; ANDERSON et al., 1999).

2.1.4.3 Metastasierungsrate

Die Metastasierungstendenz ist, ebenso wie die bevorzugten Metastasierungswege, abhängig von der vorliegenden Tumorart. Allgemein betrachtet ist die Wahrscheinlichkeit einer Metastasierung zum Diagnosezeitpunkt eines intranasalen Tumors gering (MORRIS et al., 1994; ADAMS et al., 1998). Am häufigsten werden Metastasen bei Karzinomen vorgefunden (HAYES et al., 1982). In einer Untersuchung an 101 Patienten mit intranasalen Karzinomen wiesen 24% der Hunde eine regionale Lymphknotenmetastase auf, wohingegen lediglich bei zwei Hunden Hinweise auf Lungenmetastasen zum Diagnosezeitpunkt zu verzeichnen waren (RASSNICK et al., 2006). Bei 139 untersuchten Hunden mit unterschiedlichen Nasentumoren konnten lediglich bei zehn Hunden vor oder während einer Therapie Metastasen festgestellt werden, wobei 80% Karzinommetastasen darstellten (YOON et al., 2007).

Zum Todeszeitpunkt liegt hingegen bei etwa 40% bis 50% der Patienten eine Metastasierung vor, wobei die Todesursache in der Regel der Primärtumor darstellt (WITHROW und VAIL, 2007).

PATNAIK et al. (1984) haben festgestellt, dass intranasale Chondro- und Osteosarkome im Vergleich zu anderen Primärlokalisationen deutlich seltener

Metastasen bilden. Wenig später publizierte PATNAIK (1989), dass mesenchymale Tumoren im Allgemeinen die geringste Metastasierungsrate unter den Nasentumoren aufweisen. Dies hatte sich bereits in einer früheren Untersuchung angedeutet (MADEWELL et al., 1976).

Da Karzinome in der Regel lymphogen metastasieren, treten Metastasen am häufigsten in den regionalen Lymphknoten und der Lunge auf (PATNAIK, 1989). Weitaus seltener sind Knochen, Nieren, Leber, Haut oder das Gehirn von einer Metastasierung betroffen (WITHROW und VAIL, 2007).

2.1.5 Stadieneinteilung sinonasaler Tumoren

Die Klassifikation der kaninen sinonasalen Tumoren durch die WHO orientierte sich zunächst an der dreistufigen Einteilung maxillärer Tumoren des Menschen und wird in Form eines TNM-Stadiums angegeben (DUNGWORTH et al., 1999). Dabei wird das Ausmaß des Primärtumors (T), eine Metastasierung in regionale Lymphknoten (N) und das Auftreten von Fernmetasen (M) angegeben (OWEN, 1980). Der Primärtumor wird in dieser Klassifikation in drei Stadien eingeteilt (siehe **Tabelle 2-1**).

Tabelle 2-1: Stadieneinteilung kaniner sinonasaler Primärtumoren gemäß WHO (OWEN, 1980)

WHO-Tumorstadium	Kriterien
I	unilateraler Tumor ohne bzw. mit geringgradiger Knochendestruktion
II	bilateraler Tumor und/oder mäßige Knochendestruktion
III	Tumordinvasion in Nachbarstrukturen

Da diese Einteilung anhand röntgenologischer Kriterien erfolgte und sich als prognostisch nicht signifikant erwies, wurde vor einigen Jahren eine modifizierte vierstufige Einteilung des Primärtumors entwickelt, welche sich an computertomographischen Kriterien orientiert (ADAMS et al., 1987; ADAMS et al., 1998). Die Einteilungskriterien sind in **Tabelle 2-2** dargestellt.

Tabelle 2-2: Modifizierte WHO-Stadieneinteilung kaniner sinonasaler Primärtumoren anhand computertomographischer Befunde (ADAMS et al., 1987; ADAMS et al., 1998)

Modifiziertes WHO-Tumorstadium	Kriterien
I	unilateraler sinonasaler Tumor ohne Knochendestruktion
II	jegliche Knochendestruktion ohne Tumorextension in Orbita, Subkutis bzw. Submukosa
III	Tumorextension in Orbita, Subkutis bzw. Submukosa
IV	Tumorextension in Nasopharynx oder kribriforme Platte

In einer Untersuchung von RASSNICK et al. (2006) musste über ein Drittel der Tumoren zum Diagnosezeitpunkt dem Stadium IV zugeordnet werden. Aber auch dieses Schema zeigte bei einer größeren Fallzahl keine Signifikanz hinsichtlich der Prognose der Patienten (ADAMS et al., 2005). In einer aktuellen Studie wurde deutlich, dass Patienten mit einer Beteiligung des Nasopharynx ohne Osteolyse der kribriformen Platte deutlich längere Überlebenszeiten aufwiesen (ADAMS et al., 2009).

Ein weiteres modifiziertes Staging wurde von THEON et al. (1993) publiziert, deren röntgenologische Stadieneinteilung sich als prognostisch signifikant erwies. Dabei wurden lediglich zwei Tumorstadien unterschieden. Dem Stadium I wurden alle uni- oder bilateralen Tumoren zugeordnet, die sich auf die Nasenhöhle beschränkten. Zum Stadium II zählten hingegen alle intranasalen Neoplasien, die in die Stirnhöhle vorgedrungen waren oder zu einer Osteolyse jeglicher knöcherner Strukturen im Bereich der Nasenhöhle geführt haben. In einer Untersuchung von RASSNICK et al. (2006) konnten 96% der Patienten mit intranasalen Karzinomen dem Stadium II zugeordnet werden, während es in einer Untersuchung an Hunden mit Karzinomen und Sarkomen 69% waren (ADAMS et al., 2009). Wurde diese Einteilung anhand von computertomographischen Befunden bei einer größeren Fallzahl angewendet, erwies sie sich jedoch nicht als prognostisch signifikant (LA DUE et al., 1999).

Eine aktuelle Studie hat mehrere Staging-Methoden, die auf computertomographischen Befunden basierten, hinsichtlich ihrer Signifikanz für die Überlebenszeit der Patienten verglichen. Hierzu wurde zusätzlich ein modifiziertes Staging-System entwickelt, welches die stärkste Korrelation zwischen dem Tumorstadium und der rezidivfreien Zeit bzw. Überlebenszeit herstellen konnte. Dazu

wurde eine Tumorextension in den Nasopharynx, wie in **Tabelle 2-3** dargestellt, zum Tumorstadium III herabgestuft (ADAMS et al., 2009).

Tabelle 2-3: Modifizierte WHO-Stadieneinteilung kaniner sinonasaler Primärtumoren (ADAMS et al., 2009)

Modifiziertes WHO-Tumorstadium	Kriterien
I	unilateraler sinonasaler Tumor ohne Knochendestruktion excl. Turbinalia
II	jegliche Knochendestruktion ohne Tumorextension in Orbita, Subkutis bzw. Submukosa
III	Tumorextension in Orbita, Subkutis, Submukosa bzw. Nasopharynx
IV	Destruktion der kribriformen Platte

Knapp ein Drittel der 94 untersuchten Hunde musste dem Stadium IV zugeordnet werden und wies signifikant kürzere Überlebenszeiten auf (median 6,7 Monate). Die längsten Überlebenszeiten zeigten Patienten mit unilateralen Tumoren und auf die Turbinalia beschränkten Osteolysen (Stadium I) mit median 23,1 Monaten. Dieses neueste Staging zeigte die deutlichste Signifikanz zwischen dem klinischen Stadium und der Überlebenszeit nach kurativer Bestrahlung (ADAMS et al., 2009).

2.1.6 Diagnostik

2.1.6.1 Bildgebende Diagnostik

2.1.6.1.1 Röntgenologische Untersuchung

Eine Darstellung der Nasenhöhle mittels klassischer Röntgentechnik ist eine häufig angewendete, aber im Vergleich zu den Schichtbildtechniken wenig sensitive Möglichkeit zur Diagnostik intranasaler Erkrankungen (PARK et al., 1992; CODNER et al., 1993; SAUNDERS et al., 2003). Die größtmögliche diagnostische Sicherheit bietet hierbei die Durchführung verschiedener Lagerungstechniken, da im Bereich des Kopfes zahlreiche Überlagerungen knöcherner und weichteildichter Strukturen die Auswertung erschweren. So stellt eine Kombination aus dorso-ventralem, latero-lateralem und rostro-kaudalem Strahlengang eine sinnvolle Vorgehensweise dar. Die Aufnahme im dorso-ventralen Strahlengang wird bevorzugterweise mit intra oraler Röntgenplatte ausgeführt. Der rostro-kaudale Strahlengang, auch als Skyline-Aufnahme bezeichnet, dient insbesondere der überlagerungsfreien Darstellung der Stirnhöhlen (RUSSO et al., 2000; KNOTEK et al., 2001; WITHROW und VAIL, 2007; MELER et al., 2008). Intranasale Neoplasien stellen sich durch eine weichteildichte

Verschattung in der Nasen- und/oder Stirnhöhle dar, die zu einer Asymmetrie führt. Häufig fallen zudem Osteolysen der Turbinalia oder Deviationen des Septum nasale auf. Auch Osteolysen der knöchernen Nasenhöhlenbegrenzung und weichteildichte Zubildungen im Umgebungsgewebe können zu erkennen sein (MAC EWEN et al., 1977; RUSSO et al., 2000; MELER et al., 2008). MELLANBY et al. (2002) konnten in einer Untersuchung an 56 Hunden mit Nasentumoren bei über 90% Turbinaliadestruktionen und bei nahezu einem Viertel weitere Osteolysen feststellen. Osteolysen sind jedoch nicht pathognomonisch für intranasale Neoplasien, sondern kommen auch bei Mykosen und seltener bei chronischen Rhinitiden vor (MELER et al., 2008). Es existieren keine röntgenologischen Befunde, die zweifellos für eine Neoplasie sprechen (RUSSO et al., 2000). In einer Studie von HARVEY et al. (1979) konnten Radiologen bei 83% der Neoplasien und bei lediglich 52% der Rhinitiden mittels einer Röntgenbildbeurteilung die richtige Diagnose stellen.

2.1.6.1.2 Computertomographie und Magnetresonanztomographie

Detailreiche und daher gut geeignete Diagnostika für intranasale Erkrankungen stellen die Computer- und Magnetresonanztomographie (CT und MRT) dar (PARK et al., 1992; CODNER et al., 1993; SAUNDERS et al., 2003; LEFEBVRE et al., 2005; AVNER et al., 2008). In einigen vergleichenden Studien zur Diagnostik intranasaler Erkrankungen bei Hunden hat sich eine deutliche Überlegenheit in der Detailerkennbarkeit gegenüber Röntgenaufnahmen erwiesen (PARK et al., 1992; CODNER et al., 1993). Durch die dünnen Schichtaufnahmen kann das Tumorausmaß, insbesondere in den Retrobulbärraum, die Nasennebenhöhlen, den Nasopharynx oder durch das Palatum durum bzw. die kribriiforme Platte besser beurteilt werden als im konventionellen Röntgen (CODNER et al., 1993).

Die Sensitivität und Spezifität der CT im Hinblick auf die Diagnosestellung einer intranasalen Neoplasie ist mit 89% bzw. 98% bis 100% sehr hoch (SAUNDERS et al., 2003). Daher eignet sich die CT hervorragend zur Diagnostik eines sinonasalen Tumors sowie als Grundlage zur Biopsieentnahme und Bestrahlungsplanung (PARK et al., 1992; LEFEBVRE et al., 2005; SCRIVANI, 2009).

Als häufigste Befunde bei intranasalen Tumoren werden mehr oder weniger homogene, weichteildichte Zubildungen innerhalb der Nasen(neben)höhlen, eine Destruktion der Conchen und eventuell des Septum nasale erhoben. Bei chronischen Rhinitiden sind die Turbinalia in der Regel unverändert oder von einer verdickten

Schleimhaut umgeben. Bei Rhinomykosen können sie zwar ebenfalls destruiert sein (LEFEBVRE et al., 2005), aber es liegt im Gegensatz zu den intranasalen Neoplasien in der Regel kein Masseneffekt vor (SCRIVANI, 2009). Zusätzlich kann in der Computer- und Magnetresonanztomographie durch die intravenöse Applikation eines Kontrastmittels zwischen gut durchblutetem Gewebe, wie beispielsweise Tumorgewebe oder entzündlich verändertem Gewebe, sowie nicht durchblutetem Gewebe, wie beispielsweise Exsudat und Nekrosen, unterschieden werden. Eine nicht-kontrastmittelanreichernde Verschattung des Sinus frontalis wird als Flüssigkeitsretention in Folge einer obstruktiven Sinusitis durch den Nasentumor angesehen (LEFEBVRE et al., 2005). Diese reine Flüssigkeitsfüllung kann in einer T2-gewichteten MRT-Sequenz nachvollzogen werden, welche sich ebenfalls für die Darstellung intrazerebraler Ödeme durch eine Tumordinvasion eignet (DREES et al., 2009).

Das morphologische Bild der Veränderung und der Grad der Kontrastmittelanreicherung erlauben jedoch keine gesicherten Rückschlüsse auf die Histologie der Veränderung (CODNER et al., 1993; LEFEBVRE et al., 2005). Bisher konnten keine Befunde statuiert werden, die einzeln oder in Kombination zweifellos für eine Neoplasie sprechen (SAUNDERS et al., 2003). Die Vorteile der CT gegenüber der MRT bestehen in einer besseren Detaillierbarkeit knöcherner Strukturen, einer kürzeren Untersuchungsdauer und in geringeren Kosten (DREES et al., 2009; MIHALJEVIC et al., 2009).

Auch die MRT eignet sich zur Diagnostik intranasaler Erkrankungen und wird in der Tiermedizin zunehmend verfügbar (MALINOWSKI, 2006). Der Vorteil der MRT liegt insbesondere in einem hohen Weichteilkontrast, der insbesondere die Beurteilung des Neurokraniums verbessert (DREES et al., 2009; MIHALJEVIC et al., 2009). Auf diese Weise kann eine Tumordinvasion in das Riechhirn und eine Kompression bzw. Ödematisierung des Gehirns sowie eine Abgrenzung von Sekret und Gewebezubildung sicherer diagnostiziert werden (MERTENS, 2002; AVNER et al., 2008). Eine ähnliche Aussagekraft wie in der CT kann bei intranasalen Knochenveränderungen getroffen werden, jedoch sind Osteolysen der Nasenhöhlenbegrenzung und hier insbesondere der kribriiformen Platte in der CT besser zu beurteilen (DREES et al., 2009). In einer retrospektiven Studie von

AVNER et al. (2008) wurden die Befunde von fünfzig intranasalen Tumoren in der MRT untersucht. In 98% der Fälle zeigte sich eine weichteildichte Zubildung mit Destruktion der Conchen bzw. Ethmoturbinalia. Zweithäufigster Befund war eine Destruktion des Septum nasale, gefolgt von einer Sekretretention im Sinus frontalis (62%). Die Hälfte der Patienten zeigte zudem eine knöcherne Destruktion nasaler Umgebungsstrukturen.

2.1.6.1.3 Rhinoskopie

Eine direkte Visualisierung intranasaler Strukturen ist mittels Endoskopie möglich (KNOTEK et al., 2001). Dabei wird am narkotisierten Hund ein starres oder flexibles Endoskop über den ventralen Nasengang oder retropharyngeal in die Nasenhöhle eingeführt (WILLARD und RADLINSKY, 1999; MELER et al., 2008). Vorteile dieser Bildgebung sind die relativ einfache und sichere Darstellung pathologischer Veränderungen in der Nasenhöhle. In einer Untersuchung von MELER et al. (2008) konnte bei 75% der Patienten mit einer Neoplasie eine Zubildung in der Nasenhöhle nachgewiesen werden. Zudem stellt sich die differentialdiagnostisch zu bedenkende Mykose in der Regel pathognomonisch in Form käsiger, gräulichweißer Beläge auf der Nasenschleimhaut dar (KNOTEK et al., 2001; LEFEBVRE et al., 2005). Ein weiterer Vorteil ist, dass auf diese Weise Biopsien unter Sichtkontrolle aus den veränderten Bereichen entnommen werden können. Nachteilig ist vor allem das recht oberflächliche Bild der Veränderungen, so dass im Rahmen von Biopsien die periphere Sekundärentzündung zu falsch-negativen Ergebnissen führen kann (LEFEBVRE et al., 2005; MALINOWSKI, 2006). Zudem ist das gesamte Ausmaß der Neoplasie in der Regel nicht beurteilbar (KNOTEK et al., 2001; LEFEBVRE et al., 2005).

2.1.6.2 Biopsie

Für eine endgültige Diagnosestellung und Zuordnung zu einer bestimmten Tumorart ist in der Regel eine histologische Untersuchung notwendig (WITHROW und VAIL, 2007). Die zytologische Untersuchung spielt bei intranasalen Tumoren eine untergeordnete Rolle, da aufgrund sekundärer Veränderungen, wie Entzündung oder Nekrose, relativ häufig falsch-negative Befunde erhoben werden (BRADLEY und HARVEY, 1973; KNOTEK et al., 2001). Im Rahmen einer Bürstenzytologie waren in einer Untersuchung etwa 56% der Proben diagnostisch, bei Abklatschbiopsien etwa

81%. Es hat sich zudem ein signifikanter Unterschied in der Aussagekraft zwischen epithelialen und mesenchymalen Tumoren gezeigt, da Karzinome aufgrund einer höheren Exfoliation der Tumorzellen mit deutlich höherer Sicherheit diagnostiziert werden konnten (CLERCX et al., 1996; KNOTEK et al., 2001). Eine zytologische Untersuchung kann zudem aus Spülproben mit physiologischer Kochsalzlösung erfolgen, aber auch hier sind die Proben nur zu etwa 50% diagnostisch (MAC EWEN et al., 1977). In einer aktuellen Untersuchung erwiesen sich hingegen 90,2% mittels Hydropulsion, das heißt unter Druck gewonnener Spülproben bei intranasalen Zubildungen als diagnostisch für einen Nasentumor (ASHBAUGH et al., 2009).

Die Entnahme von Gewebeproben für eine histologische Untersuchung kann über verschiedene Wege erfolgen. Zum einen kann eine Biopsie orthograd durch die Nasenöffnungen, entweder endoskopisch oder beispielsweise mittels Biopsiezange, entnommen werden (WITHROW und VAIL, 2007). Zu beachten ist, dass nicht über den medialen Augenwinkel hinaus vorgedrungen werden darf, da auf dieser Höhe die kribriiforme Platte liegt (MALINOWSKI, 2006). Zudem ist es sinnvoll, sich im Vorfeld durch bildgebende Verfahren das Ausmaß und die Lokalisation der Neoplasie darzustellen, um so die bestmögliche Biopsiestelle und –tiefe zu ermitteln (LEFEBVRE et al., 2005). Zum anderen ist die Biopsieentnahme durch Trepanation des dorsalen Nasendachs, transpalatinal oder durch osteolytische Veränderungen hindurch möglich. Insbesondere bei Vorliegen von Epistaxis sollte vor einer Biopsie die Hämostase überprüft werden, um eine Gerinnungsstörung auszuschließen, da es durch die Biopsie zu Blutungen kommen kann (MALINOWSKI, 2006).

2.1.6.3 Metastasenscreening

Trotz der relativ geringen Metastasierungsrate der intranasalen Tumoren rundet eine palpatorische und gegebenenfalls zytologische bzw. histologische Untersuchung der regionalen Lymphknoten und eine bildgebende Untersuchung der Lunge das Staging ab (WITHROW und VAIL, 2007).

2.1.7 Differentialdiagnosen

Differentialdiagnostisch muss aufgrund der unspezifischen nasalen Symptomatik vor allem eine chronische Rhinitis, eine Mykose oder ein intranasaler Fremdkörper bedacht werden. In der Diagnostik chronischer intranasaler Erkrankungen bei Hunden wurden überwiegend chronische Rhinitiden und Neoplasien nachgewiesen (KNOTEK et al., 2001; LEFEBVRE et al., 2005; MELER et al., 2008).

Chronische Rhinitiden sind häufig lymphoplas mazellulärer Natur und treten überwiegend (60%) bilateral auf. Aufgrund der damit potentiell einhergehenden Umbauvorgänge an den Chonchae nasales, kann ein tumorähnliches Bild im Rahmen der bildgebenden Diagnostik entstehen (AUPPERLE et al., 2011). Rhinomykosen, die in unseren Breitengraden zu über 85% durch die Gattung Aspergillus verursacht werden, treten im Vergleich zu Rhinitiden und Neoplasien seltener auf (KNOTEK et al., 2001). Bei Vorliegen von Epistaxis, insbesondere bilateral, ist auch immer eine systemische Erkrankung bzw. Hämostasestörung auszuschließen (WITHROW und VAIL, 2007). Allgemein betrachtet konnte eine retrospektive Studie zeigen, dass überwiegend lokale (90/115) im Vergleich zu systemischen Ursachen (25/115) vorliegen. Insbesondere Neoplasien, Traumata und Rhinitiden waren als lokale Ursache zu evaluieren. Bei den systemischen Erkrankungen überwogen Thrombozytopenien (12/25) und -pathien (7/25) sowie Koagulopathien (3/25) (BISSETT et al., 2007). Eine dentale Erkrankung im Oberkiefer kann bei Fistelbildung in die Nasenhöhle ebenfalls zu Nasenausfluss führen und ist daher differentialdiagnostisch zu bedenken (KNOTEK et al., 2001). Bei Deformationen des Gesichtsschädels liegt meist eine Neoplasie vor, aber auch eine Aspergillose kann unter Umständen hierfür verantwortlich sein (WITHROW und VAIL, 2007). Liegen als alleiniges Symptom epileptische Anfälle oder andere neurologische Auffälligkeiten vor, stehen zunächst andere Ursachen wie idiopathische Epilepsie, Hirntumoren, Stoffwechselerkrankungen, Infektionen oder Vergiftungen im Vordergrund (SCHREY, 2005).

2.1.8 Therapie

2.1.8.1 Chirurgische Therapie

Diese Therapieform zählte noch bis in die 1970er Jahre zur Standardbehandlung intranasaler Tumoren, auch wenn auf diese Weise aufgrund der Invasivität der Neoplasien und räumlichen Nähe zu kritischen Strukturen meist keine ausreichende Resektionsweite gewährleistet ist (LAING und BINNINGTON, 1988). In einigen Studien konnte daher keine Verlängerung der Überlebenszeit bei alleiniger chirurgischer Therapie im Vergleich zu unbehandelten Tieren festgestellt werden. Zudem traten gehäuft Komplikationen in Form von Blutungen, iatrogener Verletzung kranialer Gehirnnareale oder im Verlauf der Allgemeinanästhesie auf (MAC EWEN et

al., 1977; ADAMS et al., 1987; LAING und BINNINGTON, 1988; HENRY et al., 1998). Die mediane Überlebenszeit lag nach alleiniger chirurgischer Resektion bei drei bis sieben Monaten (LAING und BINNINGTON, 1988; HENRY et al., 1998). In der Untersuchung von LAING und BINNINGTON (1988) konnte ein signifikanter Unterschied in der Überlebenszeit von Patienten mit unilateralen und bilateralen Tumoren festgestellt werden. Erstere wiesen eine mediane Überlebenszeit von elf Monaten auf, während Patienten mit bilateralen Tumoren median nur drei Monate überlebten.

Aufgrund dieser unbefriedigenden Ergebnisse wurde der Einsatz einer adjuvanten, postoperativen Radiotherapie untersucht, durch den längere Überlebenszeiten erreicht werden konnten. Durch eine Kombination aus Chirurgie und Orthovoltage-Bestrahlung konnte die Überlebenszeit auf 7 bis 23 Monate angehoben werden (MAC EWEN et al., 1977; THRALL et al., 1983; ADAMS et al., 1987; EVANS et al., 1989; NORTHRUP et al., 2001). Seit dem Einsatz der Megavoltage-Strahlentherapie in der Veterinärmedizin hat sich hingegen in mehreren Studien gezeigt, dass eine begleitende chirurgische Zytoreduktion keine Steigerung der Überlebenszeit im Vergleich zu einer primären Bestrahlung verspricht (ADAMS et al., 1987; MC ENTEE et al., 1991; MORRIS et al., 1994; HENRY et al., 1998). Deshalb spielen chirurgische Maßnahmen aus heutiger Sicht nur noch eine untergeordnete Rolle. In einer aktuelleren Studie zeigte sich jedoch, dass eine Zytoreduktion bei Tumorresiduen nach einer Bestrahlungstherapie zu signifikant längeren Überlebenszeiten führte als bei Patienten ohne nachfolgende chirurgische Therapie (47,7 vs. 19,7 Monate), jedoch auch zu signifikant häufiger auftretenden chronischen Nebenwirkungen wie Rhinitiden und Osteomyelitis bzw. -nekrose (ADAMS et al., 2005).

2.1.8.2 Bestrahlungstherapie

Zum aktuellen Zeitpunkt stellt die Bestrahlung von Nasentumoren die Therapie der Wahl dar, da sie im Vergleich aller Therapieoptionen zu den längsten Überlebenszeiten führt (YOON et al., 2007). Eine therapeutische Einschränkung ist die direkte Nachbarschaft zu strahlensensiblen Strukturen, zu denen insbesondere das Gehirn und die Augen zählen. Diese Organe reagieren sowohl auf hohe Gesamtbestrahlungsdosen als auch auf hohe Einzelfraktionsdosen. Zudem haben Nasentumoren in den kaudalen Nasenhöhlenabschnitten aufgrund der anatomischen

Gegebenheiten meist ein größeres Volumen als rostral, wodurch eine gleichmäßige Dosisverteilung erschwert wird (WITHROW und VAIL, 2007).

Allgemein führt die Anwendung von Megavoltage-Bestrahlung mit kurativer Intention zu einer medianen Überlebenszeit von etwa einem Jahr (MC ENTEE et al., 1991; THEON et al., 1993; NADEAU et al., 2004). Nebenwirkungen treten häufig auf, sind aber in der Regel in ihrer Ausprägung akzeptabel für die Patienten und deren Besitzer. Ein höheres Maß an Spätreaktionen kann insbesondere nach adjuvanter chirurgischer Therapie (siehe oben) und nach einem akzelerierten Bestrahlungsprotokoll, das heißt häufigeren Einzelfractionen innerhalb eines kurzen Zeitraums, auftreten (ADAMS et al., 2005; WITHROW und VAIL, 2007).

Orthovoltage-Bestrahlung

Aufgrund einer energetischen Leistung im Kilovolt-Bereich kann mittels Orthovoltage-Bestrahlung nur eine Eindringtiefe von wenigen Zentimetern sowie eine schlechtere Dosisverteilung bei größeren Tumorumfängen erzielt werden (KANDEL, 2004; WITHROW und VAIL, 2007). In einer Studie von ADAMS et al. (1987) wurde festgestellt, dass eine Verlängerung der Überlebenszeit lediglich nach vorheriger chirurgischer Zytoreduktion realisierbar ist. Die zu erreichenden Überlebenszeiten bei einer Kombination aus Zytoreduktion und Orthovoltage-Bestrahlung liegen bei 7 bis 23 Monaten (LA DUE et al., 1999; NORTHROP et al., 2001).

Megavoltage-Bestrahlung

Aus der deutlich höheren Strahlenenergie im Megavolt-Bereich resultiert eine größere Eindringtiefe in das Gewebe sowie eine bessere Dosisverteilung bei größeren Tumorumfängen (KANDEL, 2004; WITHROW und VAIL, 2007). Eine Reduktion des Tumorumfanges ist vor einer Megavoltage-Bestrahlung nicht notwendig und erzielt keine Verbesserung der Überlebenszeit (ADAMS et al., 1987; THEON et al., 1993).

Im Rahmen der antineoplastischen Bestrahlungstherapie unterscheidet man hinsichtlich der Zielsetzung kurative und palliative Therapieprotokolle.

Kuratives Bestrahlungsprotokoll

Die Intention der kurativen Bestrahlung ist eine Optimierung der Tumorkontrollzeit mit der Einschränkung, dass ein höheres Maß an Nebenwirkungen in Kauf genommen werden muss (WITHROW und VAIL, 2007). Im Rahmen der kurativen Bestrahlung wird meist täglich eine Bestrahlungsfraction von geringer Dosishöhe appliziert. Allgemein werden bei der Bestrahlung von Nasentumoren meist 10 bis 19 Einzelfractionen von jeweils 3 bis 4,2 Gy angewendet, so dass eine Gesamtdosis von etwa 42 bis 58 Gy erreicht wird (ADAMS et al., 1987; MC ENTEE et al., 1991; THEON et al., 1993; ADAMS et al., 1998; NORTHRUP et al., 2001; LANA et al., 2004; NADEAU et al., 2004; ADAMS et al., 2005; YOON et al., 2007). Mit dieser Therapieform werden mediane Überlebenszeiten zwischen 7 und 20 Monaten erzielt (ADAMS et al., 1987; MC ENTEE et al., 1991; THEON et al., 1993; ADAMS et al., 1998; NORTHRUP et al., 2001; LANA et al., 2004; NADEAU et al., 2004; ADAMS et al., 2005; YOON et al., 2007; HUNLEY et al., 2010). Die 1-Jahresüberlebensrate liegt je nach Studie und Behandlungsregime bei 37% bis 60% und die 2-Jahresüberlebensrate bei 11% bis 44% (MC ENTEE et al., 1991; THEON et al., 1993; ADAMS et al., 1998; LA DUE et al., 1999; NORTHRUP et al., 2001; LANA et al., 2004; ADAMS et al., 2005; HUNLEY et al., 2010).

In einer Untersuchung von THEON et al. (1993) wurden 56 Hunde ohne und 21 Hunde mit vorheriger Zytoreduktion mit Megavoltage-Bestrahlung therapiert. Es zeigte sich hier, ebenso wie in der Untersuchung von ADAMS et al. (1987), dass keine statistische Signifikanz in der Varianz der Überlebenszeit vorliegt. Zudem wirkten sich weder die Tumorausdehnung noch -lokalisation signifikant auf die Überlebenszeit aus. Als ein signifikanter Einflussfaktor stellte sich hingegen die Tumorphistologie heraus. Hierbei zeigten Patienten mit Karzinomen ein 3,3fach höheres Rezidivrisiko im Vergleich zu Patienten mit Sarkomen (v.a. Chondrosarkomen) (THEON et al., 1993). Keinen signifikanten Unterschied in der Überlebenszeit zwischen kurativ bestrahlten Patienten mit (n=28) oder ohne Zytoreduktion (n=75) konnte eine spätere Untersuchung bestätigen. Die mediane Überlebenszeit von 315 Tagen erwies sich jedoch als signifikant länger im Vergleich zu palliativ bestrahlten Patienten (259 Tage) oder nicht bestrahlten Patienten (109 Tage) (YOON et al., 2008).

In einer weiteren Untersuchung wurde ein akzeleriertes Bestrahlungsprotokoll (42 Gy in 9 bis 10 Fraktionen) angewendet, das zu einer medianen Überlebenszeit von 14,3 Monaten, unabhängig von der Tumorart, führte. Allerdings traten bei 40% der Patienten schwerwiegende chronische Nebenwirkungen auf, die Visusverluste, Osteonekrosen und Krampfanfälle umfassten (ADAMS et al., 1998). In einer retrospektiven Studie von ADAMS et al. (2005) wurden zudem die Langzeitresultate nach akzelerierter Bestrahlung (42 Gy in 10 Fraktionen) mit oder ohne nachfolgende chirurgische Therapie evaluiert. Ein chirurgischer Eingriff erfolgte bei Tumorresiduen oder -rezidiven im Anschluss an die Bestrahlungstherapie bei 13 von 53 Hunden (25%). Bei letzteren Patienten fiel eine signifikant höhere Prävalenz chronischer Nebenwirkungen wie Rhinitis und Osteomyelitis bzw. -nekrose auf. Die mediane Überlebenszeit lag jedoch in der Kombinationsgruppe deutlich höher als in der primären Bestrahlungsgruppe (47,7 vs. 19,7 Monate). Die 2-Jahresüberlebensrate lag mit 69% ebenfalls signifikant höher als in der Gruppe der nur mit Bestrahlung therapierten Hunde (44%).

Neue, verbesserte Bestrahlungsprotokolle und Planungsverfahren befinden sich in der Veterinärmedizin noch in der Testphase und haben noch keine breite Anwendung erreicht, während sie in der Humanmedizin teilweise schon zum Standard zählen. Hierzu zählt beispielsweise die sogenannte „Intensity-modulated radiation therapy“, bei der verschiedene Dosierungen innerhalb des Bestrahlungsfeldes verwendet werden können, um das Tumorgewebe besonders stark und das peritumoröse Gewebe möglichst geringfügig zu beeinträchtigen (HUNLEY et al., 2010).

LA DUE et al. (1999) stellten als negative prognostische Faktoren für die Überlebenszeit unter anderem ein fortgeschrittenes Tumorstadium, eine Gesamtbestrahlungsdosis über 55 Gy und eine rasche Applikation hoher Einzeldosen (akzelerierte Protokolle) fest. Den negativen Effekt einer hohen Gesamtdosis (57 Gy) evaluierten bereits THRALL et al. (1993) und berichteten über inakzeptable Nebenwirkungen.

Nebenwirkungen

Als akute Strahlenreaktionen treten häufig eine nässende Dermatitis mit nachfolgender Alopezie, eine Mukositis sowie eine Keratokonjunktivitis, Blepharitis oder Kornea-Ulzeration auf (ADAMS et al., 1987; CHING et al., 1990; JAMIESON et al., 1991; THRALL et al., 1993).

Gezielte Studien bezüglich okularer Nebenwirkungen nach kurativer Bestrahlung im Kopfbereich zeigten einen charakteristischen zeitlichen Verlauf und eine zunehmende Chronizität der Nebenwirkungen, wobei häufig keine eindeutige Dosisabhängigkeit festzustellen war (CHING et al., 1990; JAMIESON et al., 1991). Selbst niedrige Einzelfraktionen von 1,5 Gy führten zu okularen Nebenwirkungen, wobei insgesamt die Einzelfraktionshöhe eine bedeutendere Rolle als die Gesamtbestrahlungsdosis zu spielen scheint (CHING et al., 1990).

Okulare Nebenwirkungen betrafen einen großen Anteil der bestrahlten Hunde (84%) und führten häufig zu einer Einschränkung des Visus (57%). Diese schwerwiegenden Nebenwirkungen waren meist chronischer Natur und traten insbesondere bei Hunden auf, die Überlebenszeiten von über sechs Monaten aufwiesen (73%) (JAMIESON et al., 1991).

Akute okulare Nebenwirkungen umfassen meist entzündlich erscheinende Veränderungen, die nicht Visus einschränkend sind. Ursächlich liegt ein direkter Effekt auf die basale korneale und konjunktivale Stammzellschicht vor, wodurch der physiologische Zellerneuerungszyklus für 2-4 Wochen unterbrochen wird. Aus dieser Stammzellschicht-Beeinträchtigung kann jedoch auch eine permanente Atrophie mit sekundärer Keratokonjunktivitis resultieren (CHING et al., 1990). Akute Nebenwirkungen heilen in der Regel nach zwei bis acht Wochen unter medikamenteller Therapie wieder ab (WITHROW und VAIL, 2007). In einer Studie von ROBERTS et al. (1987) zeigten rund 76% der Patienten akute okulare Nebenwirkungen nach Durchführung einer kurativen Megavoltage-Bestrahlung. Hiervon war ein geringer Anteil als mild und reversibel einzustufen (17%), während ein großer Anteil sich als schwerwiegend und häufig irreversibel darstellte (59% mit hochgradiger Keratitis oder Konjunktivitis, Katarakt, Keratokonjunktivitis sicca). Dadurch wurde der Visus und die Lebensqualität beeinträchtigt. In einer Studie mit größerer Fallzahl entwickelten 45% der Patienten chronische okulare Nebenwirkungen, wobei insbesondere eine Katarakt festzustellen war (THEON et al.,

1993). In einer weiteren Untersuchung an Patienten, die mit chirurgischer Zytoreduktion und Orthovoltage-Bestrahlung therapiert worden waren, traten bei 70% der Patienten chronische okuläre Nebenwirkungen auf (NORTHRUP et al., 2001). In einer späteren Untersuchung von LANA et al. (2004) entwickelten 36% der Patienten chronische okuläre Nebenwirkungen, die sich in Form einer Keratokonjunktivitis sicca, Katarakt, Keratitis oder kornealen Vaskularisierung äußerten. Seltener ist das Auftreten einer Kornea- bzw. Retinaatrophie oder einer Uveitis möglich. Zudem sind in geringerer Häufigkeit Gehirn- oder Osteonekrosen sowie Fibrosen der Haut als chronische Nebenwirkungen möglich (WITHROW und VAIL, 2007).

Chronische okuläre Veränderungen sind vermutlich überwiegend durch degenerative Gefäßveränderungen bedingt, aus denen retinale Blutungen oder eine Retinadegeneration entstehen können. Sie verlaufen nach einem relativ zeitabhängigen Schema, so dass degenerative Nebenwirkungen überwiegend 3-6 Monate nach Bestrahlungsende festgestellt wurden.

Nach über einem halben Jahr traten vermehrt Katarakte oder Fibrosierungen der Retinagefäße mit –blutungen und –degeneration auf.

Nach einem Jahr nahmen die Blutungen ab, es zeigten sich jedoch verstärkt Degenerationerscheinungen an den Ganglionzellen. Ein sekundärer Nervus opticus-Schaden konnte wiederum erst nach über zwei Jahren festgestellt werden (CHING et al., 1990).

Palliatives Bestrahlungsprotokoll

Im Vergleich zur kurativen Bestrahlung wird im Rahmen eines palliativen Protokolls hypofraktioniert bestrahlt, das heißt, dass die Gesamtbestrahlungsdosis in Form weniger Einzelfractionen höherer Dosis appliziert wird. In der Regel wird dabei drei- bis fünfmalig im Abstand von etwa einer Woche mit jeweils 6 bis 10 Gy bestrahlt. Die Literatur berichtet von Überlebenszeiten von median fünf bis neun Monaten (MORRIS et al., 1994; MELLANBY et al., 2002; YOON et al., 2007; GIEGER et al., 2008; SCHWIETZER, 2008). Die therapeutische Zielsetzung umfasst hier insbesondere eine Palliation der klinischen Symptomatik und damit eine Verbesserung der Lebensqualität (GIEGER et al., 2008).

In einer Studie mit einem palliativen Bestrahlungsprotokoll von vier Fraktionen á 9 Gy wurde bei zwölf Hunden mit unterschiedlichen intranasalen Tumorarten eine 1- bzw. 2-Jahresüberlebensrate von 58% bzw. 13% erreicht. Die mediane Überlebenszeit lag mit etwa 14,5 Monaten sehr hoch. Im Vergleich dazu wurde in einer Gruppe von 14 Hunden, die mit dem gleichen Bestrahlungsprotokoll therapiert, aber erst nach Zytoreduktion bestrahlt wurde und ebenfalls verschiedene Tumorarten beinhaltete, eine mediane Überlebenszeit von etwa 19,5 Monaten erreicht. In letzterer Gruppe wurde eine 1- bzw. 2-Jahresüberlebensrate von 71% bzw. 38% festgestellt, wobei die Unterschiede sich nicht als statistisch signifikant erwiesen. Eine Signifikanz war jedoch bei der rezidivfreien Patientenzahl nach einem Jahr zu sehen, die mit 64% der Patienten mit Zytoreduktion deutlich größer war als mit 24% der Patienten ohne Zytoreduktion. Zwischen Patienten mit Karzinomen und Sarkomen konnten weder signifikante Unterschiede in der rezidivfreien Zeit noch in der Überlebenszeit festgestellt werden (MORRIS et al., 1994). MELLANBY et al. (2002) berichteten bei einer größeren Patientenzahl (n=56) von einer Besserung der klinischen Symptomatik bei 95% der behandelten Hunde. Die mediane Überlebenszeit lag nach Anwendung des gleichen Bestrahlungsprotokolls wie bei MORRIS et al. (1994) jedoch nur bei sieben Monaten (1- bzw. 2-Jahresüberlebensrate von 45% bzw. 15%), wobei der Grund zur Euthanasie in fast allen Fällen ein Rezidiv der klinischen Symptomatik darstellte. Die Überlebenszeiten waren nicht signifikant mit dem Alter, der Dauer der Symptomatik, dem Tumorstadium oder der -art verknüpft. In einer weiteren Studie mit neun Patienten, die weit fortgeschrittene Tumorstadien aufwiesen, konnten komplette Remissionen der tumorassozierten Symptome nach palliativer Bestrahlung beobachtet werden. Zudem zeigten zwei Patienten eine komplette Tumorremission. Die mediane Überlebenszeit lag bei 5,7 Monaten (170 Tage) mit einer Streubreite von 60 bis >300 Tagen (SCHWIETZER et al., 2005). In einer nachfolgenden Studie der gleichen Autorin mit 25 Patienten, zeigten 88% eine Symptomverbesserung nach hypofraktionierter Bestrahlung und adjuvanter Carboplatin-Chemotherapie. Die mediane Überlebenszeit lag bei 156 Tagen (SCHWIETZER, 2008).

Zwölf Patienten, die hypofraktioniert mit 3-6 Fraktionen bestrahlt wurden, wiesen in einer Untersuchung von YOON et al. (2007) eine mediane Überlebenszeit von 8,5 Monaten auf. Ähnliche Ergebnisse stellten GIEGER et al. (2008) in einer

retrospektiven Studie an 48 palliativ bestrahlten Hunden mit Karzinomen fest, die mit unterschiedlichen Bestrahlungsprotokollen (2 bis 5 Fraktionen á 4 bis 10 Gy) therapiert wurden. Zwei Drittel zeigten anschließend eine komplette und nahezu ein Drittel eine partielle Symptomremission. Lediglich vier Hunde entwickelten keine Symptomverbesserung. Die mediane Überlebenszeit lag bei knapp unter fünf Monaten, wobei deutliche Unterschiede zwischen Patienten mit bzw. ohne komplette Symptomremission festzustellen waren (GIEGER et al., 2008). Eine hypofraktionierte Bestrahlung von drei Hunden mit intranasalen Plattenepithelkarzinomen führte zu einer mittleren Überlebenszeit von 16 Monaten und einem Symptommrückgang bei allen drei Patienten (KINZEL et al., 2003).

Nebenwirkungen

Im Rahmen einer palliativen Bestrahlung können ebenfalls Nebenwirkungen auftreten, wobei die Frequenz und Intensität jedoch meist geringer als bei kurativen Protokollen ist. Bei 56 palliativ bestrahlten Hunden (Gesamtbestrahlungsdosis 36 Gy) traten als Nebenwirkungen insbesondere eine Alopezie und ein Erythem im Bestrahlungsfeld auf. Während die Alopezie in der Regel permanent auftrat, heilte das Erythem unter medikamenteller Therapie ab. Weniger häufig konnten eine Konjunktivitis oder Mukositis festgestellt werden. Chronische Nebenwirkungen traten bei einem Patienten in Form einer Erblindung nach Vorliegen einer Keratitis auf (MELLANBY et al., 2002).

In einer Untersuchung an einer kleinen Patientenzahl (n=9) beschränkten sich die Nebenwirkungen, die bei über der Hälfte der Patienten auftraten, auf eine vorübergehende Konjunktivitis (SCHWIETZER et al., 2005). Eine palliative Bestrahlung mit einer Gesamtdosis von 24 Gy führte bei 60% der insgesamt 25 Patienten zu Nebenwirkungen, wovon 16% als hochgradig einzustufen waren. Auch hier wurden vorwiegend okuläre Nebenwirkungen festgestellt, die meist eine Konjunktivitis, Keratitis oder temporäre Tränenminderproduktion umfassten. Einzelne Patienten entwickelten jedoch eine permanente Tränenminderproduktion oder Panophthalmitis mit Visusverlust (SCHWIETZER, 2008).

2.1.8.3 Chemotherapie

Eine primäre Behandlung sinonasaler Tumoren mit Chemotherapeutika wurde bisher nur in Einzelfällen beschrieben (HAHN et al., 1992; LANGOVA et al., 2004). Studien liegen insbesondere zur Anwendung der Platinderivate Cisplatin und Carboplatin vor, wobei der Einsatz meist adjuvant zu einer Bestrahlungstherapie erfolgte (LANA et al., 2004; SCHWIETZER, 2008).

Der primäre Einsatz von Cisplatin bei elf Hunden mit intranasalen Adenokarzinomen wurde 1992 von HAHN et al. beschrieben. Durch diese Therapieform konnte bei allen Patienten eine Verbesserung der klinischen Symptomatik erzielt werden. Bei zwei Hunden war zudem röntgenologisch eine komplette Remission sowie bei einem weiteren Hund eine partielle Remission des Adenokarzinoms festzustellen. Die mediane Überlebenszeit lag mit dieser primären Chemotherapie bei fünf Monaten.

Einige Jahre später wurde über eine primäre Chemotherapie mit einer Kombination aus Doxorubicin, Carboplatin und dem Cyclooxygenase-Hemmstoff Piroxicam bei acht Hunden (sieben Patienten mit Karzinomen, ein Patient mit Osteosarkom) berichtet, die bei der Hälfte der Patienten zu einer kompletten Tumorremission, bei zwei Hunden zu einer partiellen Remission und bei weiteren zwei Hunden zu einer stabilen Erkrankung führte. Zusätzlich stellte sich auch hier eine deutliche Symptomverbesserung ein. Die Therapie erwies sich als gut verträglich und die Überlebenszeiten lagen zwischen 150 und 540 Tagen (LANGOVA et al., 2004).

Die Anwendung einer Kombination aus Cisplatin und kurativer Megavoltage-Bestrahlung zeigte bei 51 Hunden einen deutlichen positiven Effekt auf die mediane Überlebenszeit (15,8 Monate). Cisplatin wurde in diesem Fall als „slow release delivery system“ (OPLA®-Pt) intramuskulär appliziert, wodurch über etwa 21 Tage eine messbare Serumkonzentration während der Bestrahlungszeit vorlag. Die Patientengruppe bestand überwiegend aus Patienten mit weit fortgeschrittenen Tumoren, von denen ein Drittel eine Destruktion der kribriiformen Platte aufwies (LANA et al., 2004).

In einer aktuellen Studie mit 25 Patienten lag die mediane Überlebenszeit nach Durchführung einer Kombinationstherapie mit hypofraktionierter Megavoltage-Bestrahlung und adjuvanter systemischer Carboplatin-Applikation bei 156 Tagen mit einer Streuung von 10 bis 639 Tagen (SCHWIETZER, 2008).

2.1.8.4 Sonstige Therapieformen

2.1.8.4.1 Brachytherapie

Im Rahmen der Brachytherapie befindet sich die Strahlenquelle im Gegensatz zur Teletherapie in unmittelbarer Nähe oder im Tumor selbst. Beschrieben wurde die Brachytherapie intranasaler Tumoren mit ¹⁹²Iridium. In dieser Studie an 15 Patienten mit malignen Nasentumoren, die teilweise bereits vorbehandelt waren, wurden acht Fraktionen mit insgesamt 40 Gy appliziert, die nur in wenigen Fällen zu deutlichen Nebenwirkungen führten. Eine komplette Tumorremission konnte bei 8 von 15 Hunden beobachtet werden, während weitere fünf Hunde eine partielle Remission aufwiesen. Die mediane Überlebenszeit lag bei 17 Monaten. Aufgrund der geringeren Reichweite ist eine Anwendung bei extranasaler Ausdehnung jedoch weniger erfolgsversprechend (KLUETER et al., 2006). Zudem liegt begründet durch die geringe energetische Leistung meist eine inhomogene Dosisverteilung vor, so dass diese Therapieform keine bedeutsame Rolle bei den meist weit fortgeschrittenen Nasentumoren spielt (WITHROW und VAIL, 2007).

2.1.8.4.2 Immuntherapie

Bisher wurden wenige Ansätze hinsichtlich des Einsatzes einer Immuntherapie beschrieben.

Bereits 1977 wendeten MAC EWEN et al. bei sechs Hunden eine Immuntherapie mit einer Bakterienvakzine aus Streptococcus- und Serratia kulturen bzw. Levamisol an. Bei drei Patienten erfolgte dies als alleinige Therapie und führte zu Überlebenszeiten von drei (n=2) und zwölf (n=1) Monaten. Die anderen drei Patienten erhielten die Immuntherapie adjuvant zur einer chirurgischen Therapie und erreichten Überlebenszeiten von median 7 Monaten.

ADAMS et al. (1998) untersuchten den adjuvanten Einsatz von liposomalem Muramyl Tripeptid Phosphatidyl Ethanolamin (L-MTP-PE) zur Bestrahlungstherapie, jedoch führte dies nicht zu einer Verbesserung der Überlebenszeit im Vergleich zu unbehandelten Kontrolltieren.

2.1.8.4.3 Fotodynamische Therapie

Im Rahmen der fotodynamischen Therapie wird ein sogenannter Fotosensitizer appliziert, der im Tumorgewebe akkumuliert und durch Licht einer bestimmten Wellenlänge aktiviert wird. Dabei entstehen reaktive Sauerstoffmoleküle, die direkt

zytotoxisch oder indirekt durch Gefäßschädigungen antitumorös wirken. Aufgrund des häufig recht großen Tumervolumens wurden in einer Studie an Nasentumoren meist mehrere Bereiche unter rhinoskopischer oder computertomographischer Kontrolle behandelt. Bei den sieben behandelten Patienten trat in sechs Fällen eine Tumorremission ein. Die 1-Jahresüberlebensrate lag bei 57% (OSAKI et al., 2009).

2.1.9 Prognose

2.1.9.1 Überlebenszeit

Ohne Durchführung einer Therapie lag die mediane Überlebenszeit bei Vorliegen eines intranasalen Karzinoms bei 95 Tagen mit einer 1-Jahresüberlebensrate von 12% (RASSNICK et al., 2006). In anderen Studien lag die Überlebenszeit unbehandelter Tiere median bei 3,5 bis 5 Monaten (MAC EWEN et al., 1977; YOON et al., 2007). Durch die Anwendung palliativer Therapieansätze mit Kortikosteroiden, nicht-steroidalen Antiphlogistika (NSAIDs) oder Antibiotika zeigten 47% der Patienten eine Symptomverbesserung, jedoch ohne Einfluss auf die Überlebenszeit (RASSNICK et al., 2006). BELSHAW et al. (2009) hingegen stellten in ihrer Untersuchung fest, dass Patienten, die mit Meloxicam und einem Antibiotikum behandelt wurden, eine vergleichbare Überlebenszeit erreichten wie Patienten nach hypofraktionierter Bestrahlung (210 bzw. 214 Tage).

Ein prognostisch negativer Faktor scheint das Auftreten von Epistaxis darzustellen. Betroffene Patienten lebten unbehandelt median nur 88 Tage im Vergleich zu Patienten ohne Epistaxis, die eine Überlebenszeit von 224 Tagen aufwiesen. Andere klinische Symptome haben sich als nicht signifikant für die Prognose erwiesen (RASSNICK et al., 2006). Auch das Wiederauftreten von Epistaxis nach einer Bestrahlungstherapie hat sich als signifikanter, negativ prognostischer Faktor herausgestellt (EVANS et al., 1989).

Durch eine alleinige chirurgische Therapie konnte keine signifikant längere Überlebenszeit im Vergleich zu unbehandelten Tieren erreicht werden. Lediglich eine kurzzeitige Verbesserung der Lebensqualität war auf diese Weise möglich (MAC EWEN et al., 1977; HENRY et al., 1998).

Mittels Bestrahlung sind mediane Überlebenszeiten von 7 bis 20 Monaten (kuratives Protokoll) bzw. 5 bis 9 Monaten (palliatives Protokoll) zu erzielen (ADAMS et al., 1987; MC ENTEE et al., 1991; THEON et al., 1993; MORRIS et al., 1994; ADAMS et al., 1998; NORTHRUP et al., 2001; MELLANBY et al., 2002; LANA et al., 2004;

NADEAU et al., 2004; ADAMS et al., 2005; YOON et al., 2007; GIEGER et al., 2008; SCHWIETZER, 2008). Eine signifikant schlechtere Prognose konnten NORTHRUP et al. (2001) bei Patienten mit Deformationen des Gesichtsschädels feststellen, während eine Symptomverbesserung nach der Bestrahlungstherapie zu signifikant längeren Überlebenszeiten führte. Zudem zeigten Patienten mit einer Osteolyse der kribriiformen Platte signifikant kürzere erkrankungsfreie Zeiten sowie kürzere Überlebenszeiten von median 6,7 Monaten (ADAMS et al., 2009).

Einen wichtigen prognostischen Faktor stellt unter anderem die vorliegende Tumorart dar, da sich in zahlreichen Studien eine signifikant längere Überlebenszeit bei Sarkomen, insbesondere Chondrosarkomen, im Vergleich zu Karzinomen gezeigt hat (MAC EWEN et al., 1977; ADAMS et al., 1987; EVANS et al., 1989; MC ENTEE et al., 1991; THEON et al., 1993; KONDO et al., 2008). Dieser Unterschied konnte jedoch nicht in allen Untersuchungen bestätigt werden (MORRIS et al., 1994; YOON et al., 2007; ADAMS et al., 2009). Eine signifikant schlechtere Prognose hatten in einer Untersuchung von ADAMS et al. (1987) Patienten mit Plattenepithelkarzinomen oder undifferenzierten Karzinomen (mediane Überlebenszeit von 6 Monaten) im Gegensatz zu Adenokarzinomen (median 12 Monate). Ein Langzeit-Therapieerfolg scheint am ehesten bei Adenokarzinomen möglich zu sein (YOON et al., 2007). Auch in der Humanmedizin wiesen Patienten mit gut differenzierten Tumoren signifikant längere Überlebenszeiten auf, wobei Karzinome strahlensensibler erschienen (OBERHÄNSLI, 2003).

Über die Prognose bei Patienten mit intranasalen Übergangsepithelkarzinomen existieren nur wenige Informationen. Eine Untersuchung an sechs Hunden ergab nach ⁶⁰Cobalt-Bestrahlung mit 63 bzw. 54 Gy eine mediane Überlebenszeit von 165 Tagen (CORREA et al., 2003).

2.1.9.2 Rezidivrate

Im Allgemeinen liegt die Wahrscheinlichkeit eines lokalen Tumorrezidivs nach Bestrahlungstherapie bei etwa 60%, welches auch meist die Todesursache darstellt (RASSNICK et al., 2006).

Ein Wiederauftreten der klinischen Symptome konnte in einer Untersuchung von MORRIS et al. (1994) ein Jahr nach palliativer Bestrahlungstherapie bei 67% der Patienten festgestellt werden. Im Vergleich dazu zeigten nur 36% der Hunde, die mit

einer Kombination aus chirurgischer Therapie und Bestrahlung behandelt wurden, zu dieser Zeit erneut Symptome. In einer weiteren Studie entwickelten nur 39% der mit Zytoreduktion und kurativer Orthovoltage-Bestrahlung therapierten Patienten eine Periode ohne Krankheitssymptome (NORTHRUP et al., 2001).

Patienten mit einer deutlichen Tumorremission zeigten zudem eine signifikant längere lokale Tumorkontrollzeit (389 Tage) als Patienten ohne deutlichen Tumorrückgang (161 Tage), wobei letztere Gruppe über die Hälfte der Patienten umfasste (THRALL et al., 1993).

Signifikante Unterschiede in der erkrankungsfreien Zeit konnte zwischen Patienten mit Sarkomen (10,6 Monate) und Patienten mit Undifferenzierten Karzinomen bzw. Plattenepithelkarzinomen (4,4 Monate) festgestellt werden (ADAMS et al., 2009).

2.1.9.3 Metastasierungsrate

Der größte Anteil der Patienten weist zum Diagnosezeitpunkt weder Metastasen in den regionalen Lymphknoten noch Fernmetastasen auf. In der Regel stellt der Primärtumor die Todesursache dar (MORRIS et al., 1994; LANA et al., 2004). In einer Untersuchung von MORRIS et al. (1994) wurden nach Therapieabschluss bei 19% der Patienten Metastasen gefunden. Vier Patienten mit unterschiedlichen Karzinom-Subtypen wiesen Metastasen in den mandibulären Lymphknoten nach 11 bis 76 Wochen auf. Lungenmetastasen wurden bei drei Patienten nach 34 bis 104 Wochen festgestellt.

2.2 Das Enzym Cyclooxygenase

2.2.1 Definition

Enzyme sind Proteine, selten auch Ribonukleinsäuren, die biochemische Reaktionen katalysieren und sie dadurch um den Faktor 10^8 bis 10^{20} beschleunigen (PSCHYREMBEL, 1998; LÖFFLER, 2001). Sie weisen einen Proteinabschnitt auf, das sogenannte aktive Zentrum, innerhalb dessen sie gezielt mit spezifischen Substraten reagieren und deren Umsetzung katalysieren (LÖFFLER, 2001).

Das Enzym Cyclooxygenase (COX) liegt in mindestens zwei Isoformen vor, COX-1 und COX-2. Diese werden von zwei unterschiedlichen Genen kodiert, die auf zwei unterschiedlichen Chromosomen liegen, und nehmen jeweils spezifische biologische Funktionen wahr (SMITH et al., 1996; DORE, 2011). Sie weisen eine Homologie in der Aminosäuresequenz von 60-65% auf und katalysieren Reaktionen, die zu den gleichen Endprodukten führen (DORE, 2011). Auffällig ist, dass die Regulationsregion für die Transkription des COX-2 kodierenden Gens wesentlich größer ist als die des COX-1 Gens. Auf diese Weise ist die Induktion und Inhibition des COX-2 Gens vielfältiger und differenzierter möglich (TAKETO, 1998a/b; FOSSLIEN, 2000; JONES und BUDSBERG, 2000). Eine dritte Isoform wurde als Variante der COX-1 bei Hunden beschrieben, jedoch ist deren Bedeutung, vor allem in Bezug auf pathologische Geschehen, unbekannt (DORE, 2011).

2.2.2 Biologische Funktionen

2.2.2.1 Endprodukte der Cyclooxygenase

Beide Isoformen, COX-1 und COX-2, katalysieren die Umsetzung der Arachidonsäure zu Prostanoiden und stellen den zeitlich limitierenden Faktor für diesen biochemischen Prozess dar. Die Arachidonsäure muss zuvor aus den Phospholipiden der Zellmembran durch das Enzym Phospholipase A₂ freigesetzt werden (JONES und BUDSBERG, 2000; FLORY und LE BLANC, 2005). Zunächst entsteht durch die Wirkung der Cyclooxygenase das kurzlebige Prostaglandin H₂ (PGH₂), weshalb sie synonym als PGH-Synthetase betitelt wird. Dieser Vorgang setzt sich aus zwei Teilschritten zusammen, einer Cyclooxygenierung zu PGG₂ und einer anschließenden Peroxidation zu PGH₂. Aus letzterem werden nachfolgend

durch zellspezifische Synthetasen die zyklischen Prostanoiden gebildet (TAKETO, 1998a; WILLIAMS et al., 1999; FOSSLIN, 2000; HAYES, 2007).

Prostanoiden werden zu den Gewebshormonen gezählt, da sie von zahlreichen Zellen synthetisiert werden können (LÖFFLER, 2001). Sie umfassen die Gruppen der Prostaglandine, der Prostacycline und der Thromboxane. Diese Prostanoiden haben überwiegend unterschiedliche, teilweise aber auch vergleichbare biologische Funktionen (FOSSLIN, 2000). Diese sind zusammenfassend in **Tabelle 2-4** dargestellt.

Tabelle 2-4: Biologische Funktionen der Prostanoiden (LÖSCHER et al., 2002)

Prostanoid	Biologische Funktion
Prostaglandin (PGE ₂ ; PGF _{2α} ; PGD ₂)	Schmerz, Fieber, Entzündung Hemmung der Magensaftsekretion Reproduktionsvorgänge (z.B. Ovulation, Luteolyse, Uterusmotilität) Vaso- und Bronchodilatation
Prostacyclin (PGI ₂)	Vasodilatation, Förderung Nierendurchblutung Thrombolyse Hemmung der Magensaftsekretion
Thromboxan (PGA ₂)	Förderung der Thrombozytenaggregation Vasokonstriktion

2.2.2.2 Cyclooxygenase-1 (COX-1)

Diese Isoform wurde 1971 entdeckt und nimmt eine wichtige Stellung im Rahmen physiologischer Körperfunktionen ein, wodurch sich der Begriff „Housekeeping“-Funktion für die COX-1 Wirkung etabliert hat. Aus diesem Grund wird COX-1 auch als zytoprotektive Isoform bezeichnet, die dauerhaft in zahlreichen Zell- und Gewebetypen vorkommt (WILLIAMS et al., 1999). Letzteres ist wiederum der Grund für die häufige Darstellung als „konstitutionelle“ Form der beiden Cyclooxygenase-Isoformen (HAYES, 2007). Die wichtigsten Wirkungsorte befinden sich im Magen, in den Nieren, der Lunge, den weiblichen Geschlechtsorganen, Dünn- und Dickdarm sowie den Thrombozyten (JONES und BUDSBERG, 2000; FLORY und LE BLANC, 2005).

Im Bereich der Magenmukosa werden durch COX-1 die für den Schleimhautschutz wichtigen Prostaglandine (v.a. PGE₂) und Prostazykline (PGI₂) gebildet, die stetig auf einem basalen Level vorliegen (HAYES, 2007). Dies ist sehr bedeutsam für den Schutz der Mukosazellen vor der hochaggressiven Magensäure und somit einer Autodigestion. Durch COX-1 wird zudem die renale Durchblutung durch eine Vasodilatation gefördert, so dass beispielsweise bei Auftreten einer Hypotension einer Ischämie und Reduktion der glomerulären Filtrationsrate weitestgehend vorgebeugt werden kann (JONES und BUDSBERG, 2000). In den Thrombozyten katalysiert COX-1 die Bildung von Thromboxan (PGA₂), welches eine wichtige Funktion für die Aggregationsfähigkeit und somit für die primäre Hämostase einnimmt (JONES und BUDSBERG, 2000).

2.2.2.3 Cyclooxygenase-2 (COX-2)

Physiologisch kommt diese Isoform, die erst 1991 entdeckt wurde, nur in den Nieren, dem Trachealepithel, den pankreatischen Inselzellen und dem zentralen Nervensystem sowie in Hoden und den weiblichen Reproduktionsorganen vor. In letzteren unterstützt COX-2 die Ovulation, Implantation, Plazentabildung und Geburt (SMITH et al., 1996; WILLIAMS et al., 1999; FOSSLIEN, 2000; HAYES, 2007). In knock-out Mäusen mit fehlender COX-2 Expression konnte eine Infertilität festgestellt werden, welche durch Zugabe von PGE₂ reversibel war (FOSSLIEN, 2000).

Die wichtigere Rolle spielt COX-2 jedoch im Rahmen von Entzündungsgeschehen. Generell ist nahezu jedes Gewebe durch den Einfluss proinflammatorischer Stimuli befähigt, COX-2 sehr rasch zu synthetisieren. Daher wird diese Isoform als „induzierbare“ Form bezeichnet (HAYES, 2007). Am häufigsten wird das Enzym von Fibroblasten, Endothelzellen, Monozyten bzw. Makrophagen, Zellen der glatten Muskulatur, Chondrozyten und Synovialzellen gebildet (SMITH et al., 1996; JONES und BUDSBERG, 2000).

Induziert wird die Bildung insbesondere durch verschiedene proinflammatorische Zytokine (z.B. Interleukin 1- α [IL 1- α], Tumornekrosefaktor- α [TNF- α]), Wachstumsfaktoren (z.B. Epidermal Growth Factor [EGF], Platelet Derived Growth Factor [PDGF], Fibroblast Growth Factor [FGF], Transforming Growth Factor- β [TGF- β]), Lipopolysaccharide aus Bakterienzellwänden und Hypoxie. Aber auch Onkogene (z.B. rat sarcoma [ras] Proto-Onkogen, human epidermal growth factor receptor 2 [her-2]) und Kanzerogene (z.B. UV-Licht, Benzapyren) haben sich als Induktoren

erwiesen (SMITH et al., 1996; TAKETO, 1998; FOSSLIEN, 2000; HAYES, 2007). COX-2 wirkt überwiegend über die Synthese von PGE₂ (FOSSLIEN, 2000). Dieses Prostaglandin ist das primäre Prostanoid im Rahmen von Entzündungen und führt zu den Kardinalsymptomen wie Schmerz, Fieber, Vasodilatation und Ödembildung (JONES und BUDSBERG, 2000; FLORY und LE BLANC, 2005). Seit einigen Jahren ist zudem eine Beteiligung an der Kanzerogenese, ebenfalls vorwiegend durch die Bildung von PGE₂, bekannt. Dadurch kommt COX-2 auch eine wichtige Rolle in der Entstehung einiger Neoplasien zu (HAYES, 2007).

2.2.3 Expression von COX-2 durch Tumoren

2.2.3.1 COX-2 Expression im Rahmen der Kanzerogenese

In zahlreichen Studien konnte bereits eine Überexpression von COX-2 in Neoplasien nachgewiesen werden. Bei der Induktion des Enzyms kommt es vermutlich zu einer erhöhten Transkriptionsrate oder einer erhöhten m-RNA Stabilität (SUBBARAMAIAH und DANNENBERG, 2003). Die Überexpression erfolgt häufig durch die Tumorzellen selbst, kann aber auch durch die im Tumormilieu vorkommenden Makrophagen bzw. Monozyten, Fibroblasten und Endothelzellen ermöglicht werden. Diese können wiederum über parakrine Mechanismen mit den Tumorzellen in Wechselwirkung treten (MOHAMMED et al., 2004).

Korrelierend mit den erhöhten COX-2 Werten wurden auch erhöhte PGE₂-Level in Neoplasien festgestellt (MOHAMMED et al., 2001).

2.2.3.1.1 Kanzerogene Wirkungsweise der COX-2

In den letzten Jahren wurden zahlreiche molekulare Mechanismen aufgedeckt, über die COX-2 die Kanzerogenese fördert. Dabei haben sich drei wesentliche begünstigende Wirkungen herauskristallisiert (FLORY und LE BLANC, 2005).

1. COX-2 assoziierte Induktion der Angiogenese

Die für ein Tumorwachstum essentielle Neubildung von Blutkapillaren bzw. -gefäßen (Angiogenese) erfolgt durch eine sehr komplexe Kaskade molekularer Abläufe. Untersuchungen ergaben, dass in physiologischem Gefäßendothel lediglich COX-1 vorliegt, während in Endothelzellen von Neoplasien oder Entzündungsgebieten vorwiegend COX-2 auftritt (FOSSLIN, 2000; LEAHY et al., 2000). Durch deren Produkt PGE₂ findet eine Induktion von IL-6 und Haptoglobin sowie des Vascular Endothelial Growth Factors (VEGF) statt. Diese Substanzen stellen wichtige Mediatoren für die Angiogenese dar (FOSSLIN, 2000; LEAHY et al., 2000). In einer Studie von LEAHY et al. (2000) konnte eine vermehrte Ausschüttung von VEGF in Neoplasien nachgewiesen werden, wodurch parakrin die Neubildung von Blutgefäßen induziert wird. Da die Synthese vorwiegend in Fibroblasten und Makrophagen, aber nicht in den Endothelzellen selbst stattfand, lag der Verdacht auf einen begünstigenden Einfluss durch COX-2 vor.

Es konnte bereits nachgewiesen werden, dass durch eine erhöhte COX-2 Expression vermehrt angiogenetische Faktoren gebildet werden und auf diese Weise eine Intensivierung des Tumorwachstums und der Metastasierungstendenz auftreten (LEAHY et al., 2000). MILAS et al. (1999) konnten zudem durch Injektion eines selektiven COX-2 Inhibitors in mit Tumorzellen präparierte Mäuse eine signifikant geringere Angiogenese erzielen.

2. COX-2 assoziierte Modulation der Immunkompetenz

Durch die Synthese von Prostaglandinen (v.a. PGE₂) findet eine Suppression von B- und T-Lymphozyten, natürlichen Killerzellen und Makrophagen statt. Zusätzlich wird die Aktivität von Lymphokinen vermindert und die Migration der Monozyten gehemmt. Damit wird durch eine vermehrte COX-2 Expression sowohl die humorale, als auch die zelluläre Immunität geschwächt. Im Rahmen von Entzündungen hat diese Immunsuppression den Zweck, eine überschießende Immunreaktion zu verhindern. Durch dieses negative Feedback schützt COX-2 daher den Organismus vor einer übermäßigen Immunreaktion (FOSSLIN, 2000; BORZACCHIELLO et al., 2004). Auf diese Weise sowie durch die Induktion des immunsuppressiven IL-10 wird die körpereigene Immunabwehr deutlich geschwächt, so dass ein Tumorwachstum gefördert wird (DE MELLO SOUZA et al., 2004; HAYES, 2007).

3. COX-2 assoziierte Hemmung der Apoptose

Die Apoptose, der sogenannte programmierte Zelltod, wird durch genetische Informationen der betroffenen Zelle selbst reguliert und initiiert. Dieser Vorgang stellt einen wichtigen Faktor für die Gewebekomöostase des Organismus dar (PSCHYREMBEL, 1998; ROESSNER et al., 2004). Durch diesen sehr komplexen Mechanismus schützt sich der Körper vor irreversibel genetisch veränderten bzw. defekten Zellen und kann so in einem hohen Maße Neoplasien vorbeugen. Eine wichtige Rolle bei diesem komplexen Vorgang spielt das Tumorsuppressorgen p53, so dass es bei Mutationen in diesem Gen vermehrt zu Neoplasien kommt. Bei etwa der Hälfte der humanen Neoplasien liegt ein defektes bzw. fehlendes p53 Protein vor (LÖFFLER, 2001).

Eine COX-2 Überexpression führt erwiesenermaßen zur Induktion von bcl-2, einem anti-apoptotischen Protein (FOSSLIEN, 2000). Die Apoptosehemmung gilt als einer der Hauptfaktoren in der Kanzerogenese, da daraus eine Immortalisation der Tumorzellen resultiert (DE MELLO SOUZA et al., 2004).

Weitere COX-2 assoziierte prokanzerogene Wirkungen

In einer neueren Studie konnte eine gesteigerte Aktivität der Matrix-Metalloproteinase-2 (MMP-2) und -9 (MMP-9) durch COX-2 festgestellt werden, so dass durch deren Kollagenspaltung die Invasivität eines Tumors gefördert werden kann (HELLER et al., 2005b). In einer Untersuchung an Lungenkrebszellen konnte durch eine COX-2 assoziierte Aktivierung von MMP-2 bereits eine Steigerung der Invasivität nachgewiesen werden (NARUSE et al., 2006).

Das Vorliegen chronischer Entzündungen ist ebenfalls als Risikofaktor in der Kanzerogenese bekannt (FLORY und LE BLANC, 2005; HAYES, 2007). Unter anderem wurde in der Humanmedizin gezeigt, dass eine ulzerative Colitis ein zehnfach erhöhtes Risiko für die Entstehung kolorektaler Tumoren birgt (CLEVERS, 2004; THUN et al., 2004). Zudem gelten weitere chronische Darmentzündungen, wie IBD (Inflammatory Bowel Disease) oder Morbus Crohn, ebenfalls als Risikofaktoren für die Entwicklung von Dickdarmtumoren. Ähnliches ist über eine chronische gastrale *Helicobacter pylori*-Infektion oder einen chronischen Magensäurereflux bekannt. Diese führen ebenfalls zu chronischen Entzündungen, die sich über Dysplasien zu Adenokarzinomen entwickeln können (THUN et al., 2004). In anderen

Bereichen entstehen aus chronischen Entzündungen, z.B. durch orthopädische Implantate oder Traumata, überwiegend mesenchymale Tumoren (FLORY und LE BLANC, 2005).

2.2.3.2 Tumoren mit COX-2 Expression

Humanmedizin

In der Humanmedizin wurde initial insbesondere bei kolorektalen Tumoren und präkanzerogenen Darmveränderungen eine Überexpression von COX-2 bzw. Prostaglandinen festgestellt. In 85% bis 90% solcher Tumoren lagen 2- bis 50fach höhere COX-2 Konzentrationen vor als in physiologischem Gewebe. In einigen Untersuchungen wurde zudem nachgewiesen, dass ein proportionaler Anstieg der COX-2 Expression und Größe bzw. Invasivität der Tumoren vorliegt (FOSSLIEN, 2000). Auch konnte durch Inaktivierung des COX-2 kodierenden Gens in Mäusen ein Rückgang genetisch induzierter adenomatöser Polypen erreicht werden (TAKETO, 1998b; FOSSLIEN, 2000). Bei anderen Neoplasien, wie Lungenkarzinomen, konnte ebenfalls bereits in frühen Tumorstadien (Carcinoma in situ) oder präkanzerogenen Veränderungen eine COX-2 Überexpression festgestellt werden (FOSSLIEN, 2000). Beim Menschen zeigten bisher insbesondere epitheliale Neoplasien (kolorektale Tumoren, Magen- und Ösophaguskarzinome, verschiedenste Plattenepithelkarzinome, Harnblasen- und Gebärmutterkarzinome, Pankreaskarzinome, Schilddrüsenkarzinome, Mamma- und Prostatakarzinome, Lungenkarzinome) sowie Osteo- und Chondrosarkome, maligne Mesotheliome und Rhabdomyosarkome eine COX-2 Überexpression (FOSSLIEN, 2000; SPUGNINI et al., 2005).

Weitere humanmedizinische Studien an kolorektalen Tumoren und Zervixkarzinomen zeigten, dass eine negative Korrelation zwischen COX-2 Expression und Prognose besteht (GAFFNEY et al., 2001; YAMAUCHI et al., 2002).

Eine Untersuchung an sinonasalen Adeno- und Plattenepithelkarzinomen zeigte, dass COX-2 signifikant stärker und häufiger bei Adenokarzinomen (92%), vor allem bei Patienten mit Holzstaubexposition, vorlag. Im Gegensatz dazu zeigten Proben von Nichtrauchern signifikant geringere COX-2 Werte (HOLMILA et al., 2008).

Veterinärmedizin

Der Nachweis einer Überexpression von COX-2 wurde bei einigen Tumoren von Hunden und Katzen bereits geführt, wobei es sich ebenfalls überwiegend um epitheliale Tumoren handelt. Die untersuchten Fallzahlen sind häufig jedoch nur gering und meist handelt es sich um retrospektive Studien, so dass Ergebnisse aus kontrollierten, randomisierten und prospektiven Untersuchungen größtenteils noch ausstehen (HAYES, 2007).

Studien bezüglich einer Expression von COX-2 fanden bereits bei Hunden mit Übergangsepithelkarzinomen der Harnblase (KHAN et al., 2000; MOHAMMED et al., 2002; KNOTTENBELT et al., 2006), Prostatakarzinomen (TREMBLAY et al., 1999; MOHAMMED et al., 2004; SORENMO et al., 2004; L'EPLATTENIER et al., 2007), Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle und Haut (PESTILI DE ALMEIDA et al., 2001; MOHAMMED et al., 2004), Rektumtumoren (MC ENTEE et al., 2002; KNOTTENBELT et al., 2006), Nierenzellkarzinomen (KHAN et al., 2001) und Mammatumoren (DORE et al., 2003; MOHAMMED et al., 2004; HELLER et al., 2005b; MILLANTA et al., 2006; QUEIROGA et al., 2007) statt. Ein Nachweis konnte ebenfalls bei oralen Melanomen, die in 60% eine COX-2 Expression aufwiesen (MOHAMMED et al., 2004) und Osteosarkomen (GREENBERG et al., 2003; MULLINS et al., 2004) geführt werden. Letztere zeigten eine COX-2 Expression in 23% bzw. 77% mit überwiegend schwacher bis moderater Intensität. Der Umstand einer deutlich erhöhten COX-2 Expression war mit einer signifikant kürzeren Überlebenszeit verbunden (GREENBERG et al., 2003; MULLINS et al., 2004). Zudem konnten GREENBERG et al. (2003) eine COX-2 Expression in 33% der Lungenmetastasen feststellen, die damit höhere Werte als die Primärtumoren (23%) aufwiesen. Heterogene COX-2 Expressionsraten bei Osteosarkomen sind auch aus der Humanmedizin bekannt, wobei ein Einfluss der histologischen Subklassifizierung (osteo-, chondro- und fibroblastisch) vermutet wird (NARUSE et al., 2006).

Ergänzend zu den Untersuchungen hinsichtlich einer Überexpression von COX-2 wurden verschiedene Tumoren und Zelllinien auch auf eine Überexpression von PGE₂ untersucht, was zu analogen Ergebnissen führte. Erhöhte PGE₂-Werte konnten bei der Mehrzahl kaniner Übergangsepithelkarzinome der Harnblase, Prostatakarzinome sowie oraler und kutaner Plattenepithelkarzinome festgestellt werden. Weniger häufig konnten auch bei oralen Melanomen, Osteosarkomen und

Mammakarzinomen erhöhte Prostaglandinkonzentrationen nachgewiesen werden (KNAPP et al., 1994; MOHAMMED et al., 2001 und 2003).

Keine Überexpression von COX-2 bzw. PGE₂ konnte hingegen beim kaninen malignen Lymphom festgestellt werden (MOHAMMED et al., 2001 und 2004). Auch Hämangiosarkome, histiozytäre Sarkome und Grad-II Mastzelltumoren zeigten keine signifikante COX-2 Expression (HELLER et al., 2005a).

Bei feline Tumoren fanden bisher weit weniger Untersuchungen statt. Eine Studie an verschiedenen feline Neoplasien konnte bei oralen Plattenepithelkarzinomen und Übergangsepithelkarzinomen der Harnblase vereinzelt eine COX-2 Überexpression nachweisen (BEAM et al., 2003). Die Fallzahlen waren bisher relativ gering. Bei 19 untersuchten Übergangsepithelkarzinomen der Harnblase wiesen sieben (37%) eine COX-2 Expression auf. Bei den Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle stellten sich lediglich 2 von 21 (19%) Proben positiv für das Enzym dar. Keine COX-2 Expression wurde bei kutanen Plattenepithelkarzinomen, Adenokarzinomen der Mamma, der Lunge und des Darms, nasalen und intestinalen Lymphomen sowie injektionsassoziierten Fibrosarkomen festgestellt (BEAM et al., 2003). In einer aktuelleren Untersuchung wiesen invasive Mammakarzinome jedoch zu 96% COX-2 auf (MILLANTA et al., 2006). Eine weitere Studie stellte eine COX-2 Synthese in 25% (2/8) der untersuchten pankreatischen Adenokarzinome fest (NEWMAN und MRKONJICH, 2006).

2.2.3.2.1 COX-2 Expression durch kanine intranasale Karzinome

Erst vor wenigen Jahren fanden gezielte Untersuchungen an intranasalen Karzinomen von Hunden statt, bei denen größtenteils eine COX-2 Expression festgestellt werden konnte (BORZACCHIELLO et al., 2004; KLEITER et al., 2004; IMPELLIZERI und ESPLIN, 2007). In einer dieser Studien wurde zusätzlich physiologische Nasenschleimhaut untersucht, in der eine starke Präsenz von COX-1 auffiel. COX-1 konnte jedoch deutlich seltener (40% der Proben) und mit schwacher Intensität in neoplastischen Zellen festgestellt werden. Im Gegensatz dazu wurde COX-2 gehäuft (87% der Proben) und mit deutlich stärkerer Intensität in Karzinomzellen, aber nur vereinzelt und in geringer Intensität in normaler Nasenschleimhaut gefunden (BORZACCHIELLO et al., 2004). Diese Befunde

verhalten sich analog zu Erkenntnissen aus der Humanmedizin. Dort wiesen in einer Studie 65% der sinonasalen Karzinome eine COX-2 Expression auf, während dies nur für 3% der normalen Nasenschleimhaut und 42% der hyperplastischen Nasenschleimhaut zutraf (CUI et al., 2008). In einer weiteren humanmedizinischen Studie wurde COX-2 bei 79% der nasopharyngealen Tumoren festgestellt (SOO et al., 2005).

KLEITER et al. (2004) konnten eine COX-2 Expression bei 17 von 21 (81%) untersuchten kaninen intranasalen Karzinomen nachweisen. Es zeigten sich zudem unterschiedliche Tendenzen hinsichtlich der Expression bei den verschiedenen Karzinomsubtypen. So wiesen 73% (8/11 Proben) der Adenokarzinome, 83% (5/6) der Undifferenzierten Karzinome und 100% (4/4) der Plattenepithelkarzinome eine COX-2 Expression auf. Durch die Berechnung eines Immunhistochemie-Scores, der das Produkt aus einem Verteilungs- und Intensitätswert darstellte (Maximalwert von 12,0), konnte bei Plattenepithelkarzinomen ein deutlich höherer Wert als bei den anderen Karzinomsubtypen festgestellt werden (11,3 vs. 6,6 bzw. 6,0). Aufgrund der geringen Fallzahlen waren diese unterschiedlichen Tendenzen jedoch nicht statistisch auswertbar. Im Vergleich zu entzündlich veränderter Nasenschleimhaut, die erwartungsgemäß ebenfalls eine COX-2 Expression aufwies, lag der Immunhistochemie-Score der Karzinome mit 7,5 vs. 6,0 höher. Die Bewertung der Karzinome erfolgte lediglich anhand der neoplastischen Zellen, die sich hier, wie auch in vielen anderen Untersuchungen, sehr heterogen bezüglich einer COX-2 Expression darstellten (KLEITER et al., 2004). Ein vergleichbarer Score wurde durch BELSHAW et al. (2009) an intranasalen Karzinomen bestimmt, wobei dieser im Durchschnitt bei 5,3 lag.

Eine weitere Untersuchung ergab eine COX-2 Expression durch 17 der 24 (71%) untersuchten kaninen intranasalen Karzinome. Dabei wurde lediglich ein Plattenepithelkarzinom untersucht, welches jedoch mit 95% den höchsten Anteil COX-2-positiver Zellen aufwies (IMPELLIZERI und ESPLIN, 2007). In den Untersuchungen lag COX-2 meist zytoplasmatisch, seltener perinukleär vor. Auch im Tumorstroma sowie in benachbartem dysplastischem Epithel konnte zum Teil COX-2 nachgewiesen werden (BORZACCHIELLO et al., 2004; KLEITER et al., 2004; IMPELLIZERI und ESPLIN, 2007).

2.2.3.2.2 COX-2 Expression durch andere kanine Neoplasien

Übergangsepithelkarzinom der Harnblase

Aufgrund der Beobachtung, dass es durch den Einsatz von NSAIDs bei kaninen Übergangsepithelkarzinomen der Harnblase zu partiellen Remissionen kam, wurden Untersuchungen hinsichtlich der COX-2 Expression dieser Tumoren durchgeführt. Auf diese Weise konnte COX-2 wiederholt in 100% der untersuchten Proben nachgewiesen werden (KHAN et al., 2000; MUTSAERS et al., 2005; KNOTTENBELT et al., 2006). Auch in Metastasen dieser Tumorart konnte COX-2 in allen Proben nachgewiesen werden. Eine wichtige Erkenntnis für die Bedeutung der COX-2 in der Kanzerogenese war zudem, dass in normaler Harnblasenschleimhaut zwar konstitutionell COX-1, aber kein COX-2 identifiziert werden konnte (KHAN et al., 2000).

Mammatumoren

Mammatumoren des Hundes wurden bereits mehrfach hinsichtlich ihrer COX-2 Expression untersucht. Hierbei fiel auf, dass wiederholt eine positive Korrelation zwischen Malignität bzw. Invasivität der Tumoren und dem Vorkommen von COX-2 dargestellt werden konnte (DORÈ et al., 2003; HELLER et al., 2005b; MILLANTA et al., 2006; QUEIROGA et al., 2007). In einer Untersuchung an 147 histologischen Proben von Hunden ohne Mammatumor und Hunden mit Adenomen bzw. Adenokarzinomen zeigten sich deutliche Unterschiede in der COX-2 Expression. Während physiologisches Mammagewebe keinerlei COX-2 aufwies, zeigten 24% der Adenome und 56% der Adenokarzinome eine Überexpression. Zudem war die COX-2 Expression bei Adenokarzinomen deutlich stärker ausgeprägt als bei Adenomen (DORÈ et al., 2003). In einer aktuelleren Studie von DIAS PEREIRA et al. (2009) wurde eine ähnliche Fragestellung an 103 histologischen Proben untersucht, wobei erneut eine ausgeprägtere COX-2 Expression bei malignen Tumoren (42,2%) als bei benignen Tumoren (8,3%) nachgewiesen werden konnte. Jedoch fiel hier zusätzlich in allen 22 untersuchten physiologischen Mammagewebeproben eine konstitutionelle COX-2 Infiltration auf, die sich jedoch ausschließlich luminal in der Zellmembran zeigte. Im Gegensatz dazu lag die tumorassoziierte Expression überwiegend zytoplasmatisch vor (DIAS PEREIRA et al., 2009). In einer weiteren Untersuchung

wurde gezeigt, dass sich bei invasiven Mammakarzinomen von Hund und Katze 100% bzw. 96% der Proben positiv für dieses Enzym anfärbten. Zudem konnte eine COX-2 Überexpression mit einer schlechteren Prognose in Verbindung gebracht werden (MILLANTA et al., 2006). Eine Studie an verschiedenen Mammakarzinom-Subtypen (Adenokarzinom, solides Karzinom, anaplastisches Karzinom) konnte Unterschiede im Vorkommen von COX-2 bestätigen. Insgesamt zeigten 56% der fünfzig Proben eine COX-2 Expression. Während solide Karzinome (n=2) kein COX-2 aufwiesen, waren 46% der Adenokarzinome und 100% der anaplastischen Karzinome COX-2-positiv. Der Unterschied in der COX-2 Verteilung und Intensität zwischen den anaplastischen Karzinomen und den Adenokarzinomen war signifikant, während die Fallzahl der soliden Karzinome mit zwei Proben zu gering war, um eine statistische Aussage treffen zu können (HELLER et al., 2005b). Das hohe Vorkommen von COX-2 in anaplastischen Karzinomen konnte bei zwölf weiteren Proben bestätigt werden, da sich auch hier 100% positiv darstellten (DE MELLO SOUZA et al., 2009). Eine Korrelation zwischen der COX-2 Expression und der Malignität von Mammatumoren konnte eine Untersuchung von QUEIROGA et al. (2007) herstellen, bei der die höchsten Werte in Karzinosarkomen, tubulopapillären Karzinomen und Plattenepithelkarzinomen gefunden wurden. Die gleichen Autoren zeigten zudem eine positive Korrelation zwischen der COX-2 Expression und dem Vorkommen von VEGF. Beide Faktoren zeigten wiederum einen Zusammenhang mit einer gesteigerten Angiogenese, die signifikant höher als in benignen Tumoren war (QUEIROGA et al., 2009). Eine weitere Studie wies hingegen hohe Werte für VEGF sowohl in benignen als auch malignen Mammatumoren auf, konnte aber keine Korrelation zwischen der VEGF Expression und verschiedensten klinischen bzw. pathologischen Tumorkriterien darstellen (SANTOS et al., 2009). Im gleichen Jahr zeigten LAVALLE et al. (2009), dass alle 46 untersuchten Karzinome COX-2 und CD31 (ein Marker für die Mikrogefäßdichte) positiv waren und dass Patienten mit geringeren COX-2 Werten und einer geringeren Mikrogefäßdichte längere Überlebenszeiten aufwiesen. Eine gezielte Untersuchung von Metastasen konnte zudem eine starke COX-2 Färbung in der Mehrzahl der Proben (58,3%) nachweisen, wobei die meisten Proben eine stärkere oder vergleichbare Expression wie der Primärtumor aufwiesen (DIAS PEREIRA et al., 2009). Die Befunde aus der Tiermedizin verhalten sich analog zu Resultaten aus der Humanmedizin. Dort konnte

ebenfalls eine Korrelation zwischen der COX-2 Expression und der Tumordifferenzierung bzw. Prognose nachgewiesen werden. Zudem wurde bereits in epidemiologischen Studien ein protektiver Effekt von NSAIDs auf die Entwicklung von Mammatumoren nachgewiesen (HELLER et al., 2005b). Vergleichbar dazu wurden in Tumorzelllinien hohe Werte für COX-2 in invasiven und metastatischen Mammatumoren gemessen, während weniger maligne Mammatumorzelllinien deutlich geringere COX-2 Werte aufwiesen (FOSSLIEN, 2000). Ergänzend konnte in einer Studie an transgenen Mäusen mit einer Überexpression von humanem COX-2 die Entstehung von Hyperplasien, Dysplasien und metastatischen Tumoren in den Mammarydrüsen provoziert werden (NARUSE et al., 2006).

Prostatakarzinome

Bezüglich einer COX-2 Expression durch kanine Prostatakarzinome existieren zurzeit drei Untersuchungen, die alle einen hohen Prozentsatz positiver Tumorproben von 75% bis 89% ermitteln konnten. In keiner der Studien konnte COX-2 in normalem Prostatagewebe nachgewiesen werden (TREMBLAY et al., 1999; SORENMO et al., 2004; L'EPLATTENIER et al., 2007). Die Studie von L'EPLATTENIER et al. (2007) zielte zudem auf eine Unterscheidung hinsichtlich der Lokalisation der COX-2 Expression innerhalb der Tumoren, da häufig intratumoröse inflammatorische Bereiche festzustellen sind. Dabei stellte sich heraus, dass die inflammatorischen Bereiche der Tumoren eine geringere COX-2 Expression aufwiesen als das Tumorgewebe selbst. Zudem konnte durch Zugabe der proinflammatorischen Zytokine TNF- α und IL-6 sowie dem Wachstumsfaktor EGF keine Erhöhung der COX-2 Expression im Tumorgewebe induziert werden. Im Gegensatz dazu führte dies in normalem Prostatagewebe zu einem Anstieg der COX-2 Werte.

Kolorektale Tumoren

In der Humanmedizin ist bereits seit langem bekannt, dass das Vorkommen von COX-2 in der Entstehung von kolorektalen Karzinomen, insbesondere bereits in der Frühentwicklung, eine wichtige Rolle spielt. In physiologischem Darmgewebe konnte in den bisherigen Untersuchungen keine COX-2 Expression nachgewiesen werden. Vergleichbar zum Menschen zeigte eine Studie bei Hunden ebenfalls eine

Expression von COX-2 in intestinalen Adenomen (65%) und Adenokarzinomen (47%), wobei die Lokalisation des Enzyms Unterschiede aufwies. So lag die COX-2 Expression bei Adenomen überwiegend in nicht-neoplastischen Stromazellen, insbesondere Fibroblasten, vor, während das Enzym bei Karzinomen im neoplastischen Epithel auftrat. Vergleichbar dazu konnte auch in humanmedizinischen Studien eine unterschiedliche Lokalisation von COX-2 in benignen und malignen kolorektalen Tumoren dargestellt werden. COX-2 wurde analog zu den obigen Befunden in adenomatösen Polypen im Tumorstroma und in Karzinomen im neoplastischen Epithel nachgewiesen. Zudem konnte in dieser Studie COX-2 ebenfalls meist nur in einem kleinen Anteil (ca. 5% bis 10%) der Tumorzellen nachgewiesen werden (MC ENTEE et al., 2002). In einer weiteren Untersuchung an 21 rektalen Adenokarzinomen von Hunden zeigten lediglich 38% eine schwache COX-2 Expression (KNOTTENBELT et al., 2006). Eine großangelegte humanmedizinische Studie stellte COX-2 in 71,6% der kolorektalen Tumoren fest und konnte eine signifikante Korrelation mit dem histologischen Tumortyp, der Invasivität sowie dem Auftreten von Lebermetastasen aufweisen. Damit deutet das Vorkommen des Enzyms auch hier auf eine schlechtere Prognose hin (YAMAUCHI et al., 2002).

Plattenepithelkarzinome

Der Nachweis einer COX-2 Überexpression bei verschiedenen kaninen Plattenepithelkarzinomen konnte bereits mehrfach erbracht werden, während in normaler Epidermis weder COX-1 noch COX-2 nachgewiesen wurde. In einer Untersuchung an vierzig histologischen Proben kutaner und oraler Plattenepithelkarzinome zeigten 100% der Proben eine COX-2 Expression (PESTIL DE ALMEIDA et al., 2001). Nachfolgend konnte in einer in-vitro Studie belegt werden, dass die basale COX-2 Expression und PGE₂-Synthese in neoplastischen Keratinozyten höher liegt als in normalen Keratinozyten. Durch Zugabe eines selektiven COX-2 Inhibitors konnte zudem eine Proliferationshemmung der neoplastischen Keratinozyten erzielt werden (PRONOVOST et al., 2004). Vergleichbar zu kolorektalen Tumoren wurde auch hier bereits in präkanzerogenen Veränderungen, wie der aktinischen Keratose, eine Überexpression von COX-2 festgestellt. Dies erscheint aufgrund von Forschungsergebnissen, bei denen durch

UVB-Strahlung in-vivo eine COX-2 Synthese in Keratinozyten angeregt werden konnte, plausibel (PESTILI DE ALMEIDA et al., 2001).

2.2.4 Cyclooxygenase-Inhibitoren

2.2.4.1 Historie

Bereits aus der griechischen Antike, in der Zeit um 1800 v. Chr., existieren Berichte über die schmerzlindernde Wirkung von Weidenrinde. Erst wesentlich später konnte hierfür der Inhaltsstoff Salicin verantwortlich gemacht werden, der heute vielfach in Form der Acetylsalicylsäure überwiegend zur Schmerz- und Entzündungshemmung genutzt wird (HAYES, 2007). Schon seit geraumer Zeit werden daher solche Wirkstoffe als nicht-steroidale Antiphlogistika (NSAID) mit mehr oder weniger analgetischer und antipyretischer Wirkung eingesetzt. Aber erst in den 1970er Jahren wurde entdeckt, dass diese ihre Wirkung durch die Hemmung des Enzyms Cyclooxygenase entfalten (HAYES, 2007). Durch die daraus resultierende Prostaglandinsynthesehemmung erfolgt eine Reduktion von Entzündungsmediatoren, eine Verminderung degenerativer Prozesse und eine Eindämmung überschießender Immunreaktionen (LÖFFLER, 2001).

Vor etwa zwanzig Jahren wurden in der Humanmedizin bis dato unbekannte Effekte einer Langzeittherapie mit NSAIDs bekannt. Es konnte ein um 40% bis 50% geringeres Risiko für die Entwicklung von Kolonkarzinomen sowie eine partielle Remission von kolorektalen Polypen festgestellt werden (DE MELLO SOUZA et al., 2004; HAYES, 2007). Auch durch den gezielten Einsatz von NSAIDs bei Patienten mit einer genetischen Prädisposition für kolorektale Polypen konnte ein Rückgang der Größe und Anzahl dieser präkanzerogenen Veränderungen erzielt werden (HAYES, 2007). Aus diesen Gründen wurden zahlreiche Untersuchungen bezüglich der Wirkungsweise und des antitumorösen Effekts der COX-Inhibitoren durchgeführt, wodurch ein Einfluss der COX-2 auf die Kanzerogenese nachgewiesen werden konnte.

Auch in der Veterinärmedizin wurde im Jahr 1992 im Rahmen einer Phase-I-Studie der Einsatz des NSAIDs Piroxicam bei Hunden mit unterschiedlichen Tumoren untersucht und eine partielle Remission bei je drei Übergangsepithelkarzinomen der Harnblase und Plattenepithelkarzinomen sowie je einem Mammakarzinom und

Sticker Sarkom festgestellt (KNAPP et al., 1992). Seitdem wurden weitere Studien bezüglich eines Einsatzes von NSAIDs in der antitumorösen Therapie durchgeführt (siehe Kapitel 2.2.4.6).

2.2.4.2 Definition und Wirkungsweise

NSAIDs beinhalten als wichtigste pharmakodynamische Wirkung die Hemmung der Cyclooxygenase (TAKETO, 1998a; LÖSCHER et al., 2003; TACKE, 2005) und zählen zu den schwachen Analgetika, so dass sie auch als Nicht-Opioid Analgetika bezeichnet werden. Sie wirken vorwiegend peripher im Bereich der Nozizeptoren und lindern überwiegend den entzündlich bedingten Schmerz. Neben der analgetischen Wirkung ist auch eine antiphlogistische und antipyretische Wirkung vorhanden (LÖSCHER et al., 2003). NSAIDs zeigen eine gute Penetrationsfähigkeit in Entzündungsbereiche, wodurch es dort zu einer spezifischen Anreicherung und langer Wirkungsdauer kommt (LÖSCHER et al., 2003). Die Wirkung entfaltet sich entweder über eine enzymatische Alteration der Cyclooxygenase oder über eine kompetitive Hemmung des aktiven Zentrums (JONES und BUDSBERG, 2000).

Je nachdem welche Cyclooxygenase-Isoform bevorzugt gehemmt wird, werden drei Kategorien der COX-Inhibitoren unterschieden:

1. Präferentielle COX-1 Inhibitoren (z.B. Piroxicam, Acetylsalicyl-säure)
2. Präferentielle COX-2 Inhibitoren bzw. Inhibitoren mit äquivalenter Wirkung auf COX-1/-2 (z.B. Meloxicam, Carprofen)
3. Selektive COX-2 Inhibitoren (z.B. Firocoxib, Celecoxib)

Tabelle 2-5 gibt einen Überblick über das COX-2:COX-1 Verhältnis einzelner Wirkstoffe bei einer Hemmkonzentration, die 50% der jeweiligen COX-Isoform in intakten Zellen hemmt (IC_{50}), da dieses Verhältnis konzentrationsabhängig ist. Je höher der Wert liegt, desto höher ist die Wirkung auf COX-1 im Vergleich zu COX-2 (LÖSCHER et al., 2003).

Tabelle 2-5: COX-2/-1 Verhältnis der IC₅₀ verschiedener Wirkstoffe in intakten Zellen (LÖSCHER et al., 2003)

Wirkstoff	COX-2/-1 IC ₅₀ Verhältnis
Acetylsalicylsäure	166
Carprofen	1
Meloxicam	0,8
Celecoxib	0,0025

IC₅₀= Konzentration eines Wirkstoffes zur Hemmung von 50% des Enzyms

Diese und ähnliche Werte sind Grundlage für die Einteilung der Wirkstoffe in die drei genannten Kategorien, wobei jedoch trotz gleicher Testsysteme häufig sehr unterschiedliche Ergebnisse evaluiert werden (TACKE, 2005).

In einem Vergleich der Prostaglandinsynthesehemmung durch Aspirin® (Acetylsalicylsäure) und Meloxicam bei Hunden mit Arthrose, zeigte Aspirin® durch Senkung von PGE₂ in der Magenmukosa und der Synovia sowie von PGE₂ und Thromboxan im peripheren Blut eine deutliche Hemmung der COX-1. Meloxicam hingegen führte lediglich zu einem Rückgang von PGE₂ in der Synovia und dem peripheren Blut, aber nicht in der Magenmukosa. Auch Thromboxan wurde nicht vermindert, was auf eine minimale Hemmung der COX-1 bei überwiegender Hemmung der COX-2 hindeutet (JONES et al., 2002).

Präferentielle COX-2 Inhibitoren am Beispiel von Meloxicam

In der Gruppe der präferentiellen COX-2 Inhibitoren werden zum einen Wirkstoffe mit geringer Selektivität unterschieden, zum anderen solche mit hoher Selektivität. Zur ersten Gruppe zählt beispielsweise der Wirkstoff Carprofen, welcher die Isoenzyme COX-1 und -2 nahezu in gleicher Intensität hemmt (WILSON et al., 2004). Demgegenüber hemmt Meloxicam COX-2 etwa 13-mal stärker als COX-1 (GOLDMAN et al., 1998). Der IC₈₀ für COX-2 ist bei Meloxicam vergleichbar mit dem IC₂₅ für COX-1 (NARUSE et al., 2006). In einer Studie zeigte der Langzeiteinsatz von Meloxicam bei experimenteller Arthritis eine gute antiphlogistische Wirkung ohne die Entwicklung gastrointestinaler Nebenwirkungen (FOSSLIEN, 2000). Meloxicam ist zur Langzeittherapie mit einer Erhaltungsdosis von 0,1 mg/kg Körpergewicht (KG) für Hunde zugelassen. Jedoch können auch bei solchen präferentiellen COX-2 Hemmstoffen Nebenwirkungen, vor allem gastrointestinaler Natur, auftreten. Zudem

ist durch eine Beeinflussung der renalen Durchblutungsregulation eine Nierenfunktionsstörung möglich, was aufgrund des physiologischen Vorkommens von COX-2 in den Nieren auch bei selektiven Hemmstoffen zu bedenken ist (LÖSCHER et al., 2003).

Ein konstanter, wirksamer („steady state“) Plasmaspiegel wird beim Hund schon am zweiten Tag erreicht. Die Halbwertszeit von Meloxicam beträgt beim Hund etwa 24 Stunden, so dass eine einmal tägliche Anwendung ausreichend für die Aufrechterhaltung eines gleichmäßigen Wirkspiegels ist. Die Ausscheidung erfolgt zu etwa 75% biliär (Quelle: Fachinformation Metacam® 1,5 mg/ml - Suspension zum Eingeben für Hunde, Boehringer Ingelheim Vetmedica).

Selektive COX-2 Inhibitoren

Im Vergleich zu den präferentiellen COX-Inhibitoren zeigen selektive COX-2 Inhibitoren eine spezifische Hemmwirkung auf COX-2. Der Wirkstoff Firocoxib beispielsweise hemmt COX-2 etwa 500mal stärker als COX-1. In einigen Untersuchungen konnte ein deutlich geringeres Nebenwirkungspotential für den Gastrointestinaltrakt und die Thrombozytenaggregation festgestellt werden (FOSSLIEN, 2000). Die renalen Nebenwirkungen sind jedoch vergleichbar, da COX-2 dort als konstitutionelles Enzym vorliegt. Zudem wirken diese Hemmstoffe teilweise prothrombotisch, da weniger Prostazyklin freigesetzt wird (TACKE, 2005). Auch konnten bei Hunden, die den Wirkstoff Rofecoxib erhielten, signifikant mehr gastrointestinale Läsionen festgestellt werden als bei Hunden, die ein Placebo erhalten hatten. Dies war insbesondere der Fall, wenn initial bereits Magenwandschädigungen vorlagen, was durch die wichtige Rolle der COX-2 im Heilungsverlauf von Magenwandschädigungen zu erklären ist (LÖSCHER et al., 2003; MOREAU et al., 2005; TACKE, 2005).

Ein wichtiger Punkt für den Einsatz von NSAIDs ist zudem, dass keine direkte Dosisübertragung von Mensch auf Hund und Katze erfolgen kann, da die Verträglichkeit große Unterschiede aufweist. Hunde und Katzen scheinen generell auf NSAIDs sensibler anzusprechen, daher sind geringere Dosierungen ausreichend. Die Ursache dafür könnten der enterohepatische Kreislauf und die geringere

Glucuronyltransferase-Aktivität bei Hund und Katze darstellen (JONES und BUDSBERG, 2000).

2.2.4.3 Nebenwirkungen

Die Nebenwirkungen der NSAIDs limitieren unter Umständen eine Langzeittherapie und ergeben sich aus der Hemmung der physiologischen Cyclooxygenase-Funktionen. Hierbei treten insbesondere gastrointestinale Irritationen durch Verminderung der zytoprotektiven Prostaglandine und -zykline auf. Durch eine erhöhte Magensäuresekretion und verringerte Schleimsekretion kann es zu einer Gastritis und nachfolgend zu Magen-Darm-Ulzerationen mit Blutungen bis hin zu Perforationen kommen (FOSSLIEN, 2000; LÖSCHER et al., 2003). Die klinische Symptomatik umfasst Anorexie, Vomitus, Hämatemesis, Diarrhoe oder Meläna (TACKE, 2005). In einer humanmedizinischen Studie wies jeder vierte Patient, der länger als ein Jahr NSAIDs eingenommen hat, ein Magenulkus auf (FOSSLIEN, 2000). Die Therapie solcher Nebenwirkungen umfasst das Absetzen des NSAIDs, eine Magen-Darm-Diät und eine Zytoprotektion durch Sucralfat, Misoprostol und/oder Ranitidin (TACKE, 2005).

Aufgrund einer vasodilatativen Wirkung der Cyclooxygenase kann durch eine NSAID-Gabe eine Blutdruckregulationsstörung in den Nieren auftreten, so dass daraus eine Funktionsbeeinträchtigung resultieren kann (LÖSCHER et al., 2003). Dies kann insbesondere aus einer Kombination mit ACE-Hemmern, Betablockern und/oder Diuretika resultieren (FOSSLIEN, 2000). Liegen bereits im Vorfeld ausgeprägte Störungen der Nierenfunktion vor, kann eine Potenzierung eintreten, die eine Gabe von NSAIDs kontraindiziert erscheinen lässt (LÖSCHER et al., 2003).

Zudem können durch einen NSAID-Einsatz Einschränkungen der primären Hämostase durch Hemmung der Thrombozytenaggregation auftreten (FOSSLIEN, 2000). Wesentlich seltener treten Überempfindlichkeitsreaktionen (Urtikaria, Larynxödem, Bronchospasmus oder Kreislaufkollaps) durch eine vermehrte Leukotrienproduktion aus Arachidonsäure auf (TACKE, 2005).

Die aufgeführten Nebenwirkungen treten insbesondere bei Einsatz präferentieller COX-1 Inhibitoren (z.B. Piroxicam) auf, da diese die physiologischen Funktionen der Cyclooxygenase am stärksten einschränken. Insbesondere gastrointestinale Nebenwirkungen treten jedoch auch, in geringerem Maße, bei präferentiellen oder

selektiven COX-2 Inhibitoren auf (FLORY und LE BLANC, 2005). Eine kardiale Toxizität mit erhöhtem Risiko für einen Herzinfarkt oder ähnliches, wie sie in der Humanmedizin bekannt ist, wurde bei Tieren bisher nicht nachgewiesen (HAYES, 2007). Allgemein betrachtet treten durch die präferentiellen und selektiven COX-Inhibitoren Nebenwirkungen im klinischen Einsatz mittlerweile nur noch selten auf (TACKE, 2005).

2.2.4.4 Wechselwirkungen

Eine Kombination mehrerer NSAIDs oder eines NSAIDs mit einem Glukokortikoid ist kontraindiziert, da eine Potenzierung des Nebenwirkungspotentials entsteht. Aufgrund der hohen Plasmaproteinbindung der NSAIDs können Interaktionen mit anderen Pharmazeutika, wie ACE-Hemmern, Betablockern oder Diuretika, auftreten. Deren Wirkung kann auf diese Weise verstärkt oder abgeschwächt werden (LÖSCHER et al., 2003).

2.2.4.5 Antineoplastische Wirkungsweise der NSAIDs

COX-abhängige Wirkung

Als Hauptwirkungsmechanismus der NSAIDs in der Tumorthherapie wird die COX-2 Inhibition beschrieben, die zu einer verminderten Prostaglandinsynthese (v.a. PGE₂) führt (GOLDMAN et al., 1998). Auf diese Weise werden insbesondere die Mechanismen der Immunsuppression, Angiogeneseförderung und Apoptosehemmung reduziert (HAYES et al., 2007). Prostaglandine wirken über die Bindung an sogenannte EP-Rezeptoren (EP-1 bis EP-4), wobei insbesondere EP-2 eine wichtige Rolle in der Tumorentstehung zu spielen scheint (BAEK et al., 2009). Dies wurde bisher insbesondere bei Tumoren des Menschen und bei Nagetieren nachgewiesen, kann aber aufgrund des konservierten Charakters der Prostaglandinsynthese zwischen verschiedenen Spezies auch bei Hunden vorausgesetzt werden. Es wurde beispielsweise bei Mäusen mit fehlendem COX-2 Gen (COX-2 knockout Mäusen) gezeigt, dass eine Induktion bestimmter Tumoren signifikant geringer möglich war als bei normalen Mäusen. Ergänzend liegen Hinweise vor, dass die Hemmung der konstitutionellen Form, COX-1, ebenfalls zu einem Tumorrückgang führen kann (BAEK et al., 2009).

Die exakten Hintergründe der antitumorösen Wirkung der NSAIDs sind jedoch noch nicht umfassend geklärt und teilweise umstritten. Es hat sich zum Teil gezeigt, dass die COX-2 Expression eines Tumors nicht zur Einschätzung der therapeutischen Wirkung eines NSAIDs herangezogen werden kann, was impliziert, dass zusätzlich zur Cyclooxygenasehemmung auch COX-unabhängige Wirkungen, wie beispielsweise eine Hemmung von Onkogenen oder eine Apoptoseförderung, existieren (SANCHEZ-ALCAZAR et al., 2003; DE MELLO SOUZA et al., 2004; KNOTTENBELT et al., 2006; DORE et al., 2011). Vermutlich spielt aber auch die Art des COX-2 Nachweises eine entscheidende Rolle, da nicht zwangsläufig eine Korrelation zwischen der COX-2 Expression und der PGE₂-Ausschüttung vorliegt und beispielsweise bei immunhistochemischem Nachweis keine Aussage über die Aktivität des Enzyms getroffen werden kann (DORE et al., 2011).

COX-unabhängige Wirkung

Zahlreiche Untersuchungen geben Anlass zu der Annahme, dass neben den COX-abhängigen Wirkungsweisen auch andere molekulare Mechanismen bedeutsam für eine NSAID Wirkung in der Tumorthherapie sind (BAEK et al., 2009).

In bestimmten humanen Tumorzellen konnte eine Apoptoseinduktion durch die Gabe eines NSAIDs festgestellt werden, ohne dass diese Tumorzellen eine erhöhte COX-1 bzw. -2 Expression aufwiesen (WILLIAMS et al., 1999). Zudem zeigte sich, dass auch in COX-2 exprimierenden Tumoren COX-unabhängige Wirkungsweisen der NSAIDs existieren, über die eine Apoptose induziert werden kann (NARUSE et al., 2006). In der Studie von SANCHEZ-ALCAZAR et al. (2003) wurde eine Freisetzung von Cytochrom C und Apoptose-induzierendem Faktor sowie eine nachfolgende Caspase-Aktivierung als Ursache für die Apoptoseförderung genannt.

Eine Untersuchung an humanen Osteosarkomzelllinien konnte das Vorliegen COX-2 abhängiger und -unabhängiger Wirkungen von Meloxicam bestätigen. Dabei wurde in Zelllinien mit starker COX-2 Expression eine signifikant höhere, teilweise dosisunabhängige Hemmung der PGE₂-Produktion und der Proliferation sowie Invasivität der Tumorzellen festgestellt als in Zelllinien mit geringerer Expressionsrate. In einer hochgradig COX-2-positiven Zelllinie konnte die Invasivität um 70% reduziert werden. Durch exogene Zugabe von PGE₂ konnten jedoch nicht alle wachstumshemmenden Effekte von Meloxicam aufgehoben werden, was eine

zusätzliche COX-unabhängige Wirkung impliziert (NARUSE et al., 2006). Bei den im Organismus zu erreichenden Gewebekonzentrationen konnte bisher jedoch keine direkte zytotoxische Wirkung der NSAIDs nachgewiesen werden (KNAPP et al., 1992; NARUSE et al., 2006; ZATELLI et al., 2007). In einem Review bezüglich eines NSAID-Einsatzes in der onkologischen Präventivmedizin wurden zwei relevante COX-unabhängige molekulare Mechanismen der NSAID-Wirkung besprochen. Zum einen wurde über das noch weitestgehend unbekannte *NSAID-activated gene-1* (NAG-1) berichtet, welches Wirkungsweisen der TGF- β Zytokine aufweist. Somit kann die Aktivierung des Gens nach NSAID-Gabe beispielsweise eine Apoptose induzieren und einen Zellzyklusarrest in epithelialen Zellen hervorrufen. Dieses Gen erscheint in einigen Tumoren, wie z.B. Kolon- oder Prostatatumoren, herunterreguliert zu sein. Die Ergebnisse erscheinen jedoch teilweise noch kontrovers, da es Hinweise darauf gibt, dass NAG-1 in frühen Tumorstadien die Progression vermindern kann, aber in weiter fortgeschrittenen Stadien die Invasivität steigern kann. Der wachstumshemmende Effekt konnte jedoch bereits belegt werden (BAEK et al., 2009). Ein weiteres Zielgen der NSAIDs, das *Early growth response-1* (EGR-1), scheint als Tumorsuppressorgen zu fungieren und ist ebenfalls in Tumoren herunterreguliert. Welche Rolle diese Gene in der Tumorentwicklung bei Hunden spielen ist bisher noch nicht bekannt (BAEK et al., 2009). Allgemein betrachtet werden die exakten COX-unabhängigen Wirkungsweisen weiterhin kontrovers diskutiert (NARUSE et al., 2006).

Eine pharmakodynamische in-vitro Forschung anhand von Zellkulturen ist in der pharmakologischen Entwicklung neuer Wirkstoffe oder neuer Therapieansätze meist ein adäquates Mittel zur Evaluierung der Wirkungspotenz und Wirkungsweise. Jedoch gibt es bisher nur wenig etablierte kanine Zelllinien mit konstitutioneller COX-2 Expression. Entsprechende Zelllinien umfassen beispielsweise eine kanine Mammatumor- und Prostatatumor-Zelllinie, bei denen durch einen spezifischen COX-2 Inhibitor (NS-398) eine dosisabhängige Reduktion der Zellproliferation nachgewiesen werden konnte (DORE et al., 2011). Eine ähnliche wachstumshemmende und apoptoseinduzierende Tumorstoffwirkung konnte auch für Meloxicam anhand einer kaninen Osteosarkomzelllinie gezeigt werden (WOLFESBERGER et al., 2006).

Jedoch scheinen sich diese in der pharmakodynamischen Forschung verwendeten Zellkulturen nur eingeschränkt für die Untersuchung der antineoplastischen Wirkung von NSAIDs zu eignen, vermutlich bedingt durch fehlende Einflüsse auf das Immunsystem und die Angiogenese. Bei verschiedenen Tumorarten wurde festgestellt, dass ein NSAID in vivo antitumoröse Effekte zeigt, jedoch in vitro nicht oder nur in klinisch irrelevanten Konzentrationen (MOHAMMED et al., 2006). Dies konnte wenig später bestätigt werden, jedoch wurde durch Modifizierung der Zellkulturen ein System gefunden, in dem die antitumoröse Wirkung von NSAIDs verlässlicher festgestellt werden konnte. Klinische Studien erscheinen jedoch weiterhin am aussagekräftigsten (DHAWAN et al., 2008).

In der Humanmedizin wurde die Beurteilung einer Expertengruppe veröffentlicht, die nach Begutachtung zahlreicher epidemiologischer Studien zu dem Schluss gekommen ist, dass zurzeit lediglich für Aspirin eine tumorhemmende Wirkung nachgewiesen werden konnte (CUZIK et al., 2009).

2.2.4.6 NSAID-Einsatz in der Tumorthherapie

Humanmedizin

Epidemiologische Berichte aus der Humanmedizin zeigten Anfang der 1990er Jahre ein um 40-50% reduziertes Risiko für die Entwicklung kolorektaler Tumoren bei Patienten, die aus verschiedenen Gründen langfristig mit NSAIDs behandelt wurden. In einer prospektiven Studie an über 32.000 Frauen konnte ebenfalls ein um 40-50% reduziertes Risiko für die Entwicklung von Brustkrebs festgestellt werden (GOLDMAN et al., 1998; FOSSLIEN, 2000).

Aufgrund dieser Zufallsbefunde erfolgte bereits vor einigen Jahren ein NSAID-Einsatz bei Mäusen und Ratten mit chemisch induzierten Tumoren. Es zeigten sich daraufhin therapeutische Erfolge in Form eines Tumorrückgangs oder einer geringeren Tumorzinzidenz (SUBBARAMAIAH und DANNENBERG, 2003; SPUGNINI et al., 2005). Auch GOLDMAN et al. (1998) konnten einen dosisabhängigen Rückgang kolorektaler Tumoren durch Meloxicam in COX-2 exprimierenden Tumorzelllinien um 62% bis 76% und in Xenografts an Nacktmäusen um 52% zeigen.

In der Humanmedizin wurde ein Forschungsmodell mit Patienten etabliert, die an der genetischen Erkrankung der „Familiären Adenomatösen Polyposis“ (FAP) leiden und somit eine Prädisposition für die Entstehung multipler kolorektaler Polypen mit Gefahr einer Progression zu Karzinomen aufweisen. Auch hier konnte ein Rückgang der Größe und Anzahl der Polypen erzielt werden. Im Jahr 1999 wurde daher der selektive COX-2 Inhibitor Celecoxib in den USA zur Therapie von FAP zugelassen (TAKETO, 1998b; SUBBARAMAIAH und DANNENBERG, 2003).

Veterinärmedizin

Die erste veterinärmedizinische Untersuchung zur Wirkung von NSAIDs in der antitumorösen Therapie fand 1992 in einer Phase-I-Studie mit Piroxicam an Hunden mit verschiedenen Tumoren statt. Da bis dato keine zugelassenen NSAIDs für die Veterinärmedizin vorlagen, wurde Piroxicam aus der Humanmedizin umgewidmet und eine Studie zur Dosisfindung durchgeführt. Dabei konnte bei drei von zehn Übergangsepithelkarzinomen der Harnblase, drei von fünf Plattenepithelkarzinomen, einem von drei Mamma-Adenokarzinomen und einem Sticker Sarkom eine partielle Remission erzielt werden (KNAPP et al., 1992). In einer kaninen Osteosarkomzelllinie wurde vor wenigen Jahren ein zeit- und dosisabhängiger Rückgang des Tumorwachstums sowie eine Zunahme der Apoptose durch Meloxicam festgestellt (WOLFESBERGER et al., 2006). Im gleichen Jahr bestätigten KNOTTENBELT et al. (2006) eine Proliferationshemmung durch den gleichen Wirkstoff bei Osteosarkom-, Mammakarzinom- und Lymphomzelllinien. Die guten Resultate führten zu zahlreichen weiteren Studien hinsichtlich der Bedeutung der Cyclooxygenase in der Tumorentstehung und -therapie.

Übergangsepithelkarzinom der Harnblase

Am besten untersucht wurde die Anwendung von NSAIDs bisher beim kaninen Übergangsepithelkarzinom der Harnblase, bei dem in klinischen Studien mit Piroxicam als Monotherapie eine Remissionsrate von 19% bis 33% ermittelt werden konnte. Die mediane Überlebenszeit wurde in einer dieser Studien mit 181 Tagen angegeben (KNAPP et al., 1994; MOHAMMED et al., 2002). Der Rückgang eines Tumors konnte ungefähr vier Wochen nach Therapiebeginn festgestellt werden und war reversibel nach Absetzen des NSAIDs (KNAPP et al., 1994). Zur

Therapieoptimierung wurden Kombinationen mit verschiedenen Chemotherapeutika untersucht. Die Kombination von Piroxicam mit Cisplatin führte zu einer deutlichen Steigerung der Remissionsrate auf 50% bis 70% im Vergleich zu einer Monotherapie mit Cisplatin (Remissionen bei 0% bis 20%), jedoch auch zu einer potentierten Nephrotoxizität. Dadurch war ein Abbruch der Studie bei einigen Patienten erforderlich. Die Therapie führte insgesamt jedoch zu einem positiven Effekt auf die Überlebenszeit (median 329 Tage), häufig korrelierend mit verringerten PGE₂-Konzentrationen und signifikant erhöhtem apoptotischen Index. Aufgrund der hohen Inzidenz einer klinisch relevanten Nephrotoxizität ist diese Kombination jedoch nicht empfehlenswert (KNAPP et al., 2000; MOHAMMED et al., 2003).

Durch eine Kombination des weniger nierentoxischen Carboplatins mit Piroxicam konnte bei 40% (11/29) der Patienten eine partielle Remission des Tumors induziert werden. Die mediane Überlebenszeit lag hier jedoch nur bei 196 Tagen. Dabei konnten signifikante Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne eine Prostatabeteiligung durch den Tumor festgestellt werden (70,5 vs. 228 Tage mediane Überlebenszeit). Im Rahmen dieser Kombinationstherapie trat bei keinem der Patienten eine renale Toxizität auf, gastrointestinale Nebenwirkungen konnten jedoch mit überwiegend moderatem bis schwerwiegendem Ausmaß bei einem Großteil der Patienten festgestellt werden (BORIA et al., 2005).

Ein geringes Nebenwirkungspotential zeigte letztendlich die Kombination aus Piroxicam und Mitoxantron, die zu einer verlängerten Überlebenszeit (median 291 Tage) sowie zur subjektiven klinischen Symptomverbesserung bei 75% der Patienten führte. Eine Tumorremission konnte bei einem Drittel der Patienten festgestellt werden (HENRY et al., 2003). Diese Therapieform wurde wenig später mit einer Bestrahlungstherapie kombiniert, die ebenfalls zu einer subjektiven klinischen Verbesserung führte, jedoch keine Steigerung der Remissions- und Überlebenszeiten verzeichnen konnte (POIRIER et al., 2004). Um die Toxizität durch den präferentiellen COX-1 Inhibitor Piroxicam zu reduzieren, wurden in den letzten Jahren Studien mit den selektiven COX-2 Inhibitoren Celecoxib und Firocoxib durchgeführt. Eine Untersuchung an Mäusen, denen Xenografts von humanen Übergangsepithelkarzinomen der Harnblase transplantiert wurden, konnte

vergleichbare antitumoröse Effekte von Celecoxib und Piroxicam nachweisen. Beide führten nach einer 14-tägigen Anwendung durch Wachstumsverzögerung zu signifikant kleineren Tumoren, jedoch ohne Förderung einer Tumorremission bei bestehenden Tumoren. In einer Studie an Prostatakarzinom-Xenografts konnten größere antitumoröse Effekte erzielt werden, indem Celecoxib über einen längeren Zeitraum (25 Tage) gegeben wurde (MOHAMMED et al., 2006). An modifizierten Übergangsepithelkarzinom-Zellkulturen wurde wenig später durch eine 5-tägige Zugabe von Celecoxib in klinisch relevanter Dosis eine Proliferationshemmung um 31% in COX-2-positiven Zelllinien und um 11% in COX-2-negativen Zelllinien festgestellt werden. Der COX-2-abhängige Effekt konnte bereits durch Zugabe von geringen Mengen PGE₂ rückgängig gemacht werden. In hohen Dosierungen führte Celecoxib zu einer Wachstumshemmung aller Zelllinien, was für einen COX-unabhängigen Effekt in diesen Konzentrationen spricht (DHAWAN et al., 2008). Bisher existiert lediglich eine Studie über die Wirkung einer Kombination von Cisplatin mit Firocoxib bei kaninen Übergangsepithelkarzinomen der Harnblase. Dazu wurden drei Therapiegruppen gebildet, die entweder eine Monotherapie mit Cisplatin oder Firocoxib oder eine Kombinationstherapie erhielten. Die Erfolge in Form einer Remission bei der Hälfte der Patienten mit Kombinationstherapie im Vergleich zu 18% bei Monotherapie sprachen hierbei deutlich für eine Kombination aus NSAID und Chemotherapie (KNAPP et al., 2007).

Mammakarzinome

Durch den Einsatz von Piroxicam als Monotherapie bei Hündinnen mit anaplastischen Karzinomen der Mamma konnte eine Verbesserung der klinischen Symptomatik und eine stabile Erkrankung bei allen zwölf behandelten Tieren beobachtet werden. Die mediane Überlebenszeit konnte damit auf 183 Tage gesteigert werden (DE MELLO SOUZA et al., 2009).

Prostatakarzinome

Auch bei Hunden mit Prostatakarzinomen wurde bei Anwendung von COX-2 Inhibitoren über deutlich verbesserte Überlebenszeiten berichtet. Die Patienten wurden mit Carprofen oder Piroxicam therapiert und wiesen eine mediane Überlebenszeit von fast sieben Monaten auf. Ohne Therapie lag die mediane

Überlebenszeit in einer Kontrollgruppe hingegen bei unter einem Monat. Allerdings war die beschriebene Fallzahl von je etwa 15 Patienten gering (SORENMO et al., 2004).

Plattenepithelkarzinome

Piroxicam führte als Monotherapie bei 17 Patienten mit oralen Plattenepithelkarzinomen, die auch tonsilläre Formen einschlossen, zu einer kompletten Remission (n=1), partiellen Remission (n=2) und stabilen Erkrankung (n=5). Die mediane Zeit bis zur Tumorprogression lag bei 180 Tagen für Hunde mit einer Remission und 102 Tagen für Hunde mit einer stabilen Erkrankung (SCHMIDT et al., 2001).

In Kombination mit Cisplatin konnte bei 56% (5/9) der Patienten eine Remission des Tumors verzeichnet werden, jedoch ist bei dieser Kombination das nephrotoxische Potential zu berücksichtigen. Zwei Patienten wiesen eine komplette Remission und drei eine partielle Remission auf. Bei weiteren drei Hunden trat eine Stabilisierung der Erkrankung ein, so dass lediglich ein Patient eine Tumorprogression zeigte. Die mediane Überlebenszeit lag bei 237 Tagen (BORIA et al., 2004). Eine Kombination von Piroxicam und Carboplatin erzielte bei kaninen oralen nicht-tonsillären Plattenepithelkarzinomen komplette Remissionen bei 4 von 7 Hunden (57%), zudem erwies sich das Therapieprotokoll als sehr gut verträglich. Eine vollständige Remission wurde nach einem Zeitraum von 38 bis 107 Tagen beobachtet. Diese Patienten lebten zum Zeitpunkt des Studienendpunktes (306 bis 888 Tage nach Therapiebeginn) noch und wiesen weiterhin Tumoren in kompletter Remission auf (DE VOS et al., 2005).

Kolorektale Tumoren

Bei acht Hunden mit kolorektalen Polypen oder Karzinomen wurde eine Therapie mit Piroxicam durchgeführt, die bei allen Patienten zu einer subjektiven Verbesserung der klinischen Symptome wie Tenesmus oder Hämatochezie führte. Die Piroxicam-Gabe erfolgte größtenteils in Zäpfchenform. Mittels Koloskopie wurde zudem eine Verringerung der Tumorgröße bei allen acht Patienten festgestellt (KNOTTENBELT et al., 2000).

Sonstige Tumoren

Weitere Untersuchungen fanden bei oralen Melanomen und Lymphomen statt. Während Piroxicam in Kombination mit Doxorubicin beim malignen Lymphom keinen zusätzlichen Therapienutzen gegenüber einer Doxorubicin-Monotherapie erzielen konnte (MUTSAERS et al., 2002), erbrachte eine Kombination aus Piroxicam und Cisplatin beim oralen Melanom eine Remission bei zwei von elf Patienten (18%). Letztere Kombination war jedoch mit einer Nephrotoxizität bei insgesamt 41% der Patienten verbunden, die in ihrem Ausmaß akzeptabel blieb (BORIA et al., 2004).

2.3 Strahlentherapie

2.3.1 Definition

Die Strahlentherapie umfasst im engeren Sinne die Anwendung ionisierender Strahlung zur Behandlung von Neoplasien (PSCHYREMBEL, 1998). Im Allgemeinen eignet sich eine Bestrahlung insbesondere zur Therapie von lokal invasiven, aber spät oder selten metastasierenden Tumoren (KASER-HOTZ et al., 1994).

Durch eine Bestrahlung resultieren im Gewebe direkte und indirekte Ionisationen (HERRMANN et al., 2006), wobei der Großteil der Strahlenwirkung Folge indirekter Ionisationen ist (PSCHYREMBEL, 1998). Die Ionisation eines Atoms entsteht durch die Freisetzung von dessen Valenzelektron aus der äußeren Schale (HERRMANN et al., 2006). Auf diese Weise wird Energie auf die bestrahlte Materie übertragen. Als Definition für die Energiedosis dient die absorbierte Energie einer ionisierenden Strahlung pro Masseinheit. Die Einheit hierfür lautet Gray (Gy). Dabei entspricht ein Gray der Energieeinheit von einem Joule pro Kilogramm Masse (HERRMANN et al., 2006; WITHROW und VAIL, 2007). Je nach Lokalisation der Strahlenquelle unterscheidet man eine Tele- und Brachytherapie, wobei die Teletherapie alle Strahlenquellen umfasst, die sich extern des bestrahlten Objektes befinden. Bei der Brachytherapie hingegen wird die Quelle intern oder in direkter Nähe des zu bestrahlenden Gewebes platziert (WITHROW und VAIL, 2007).

2.3.2 Physikalische Aspekte der Strahlentherapie

2.3.2.1 Strahlenart

Man unterscheidet Teilchenstrahlung (z.B. Elektronen, Protonen, Neutronen) von elektromagnetischer Wellenstrahlung (z.B. Gammastrahlen, Röntgenstrahlen), wobei beide Strahlenarten ihre Wirkung durch die Übertragung von Energie auf Materie entfalten (HERRMANN et al., 2006).

Des Weiteren unterscheidet man bei der Teilchenstrahlung geladene und ungeladene Teilchen. Geladene Teilchen (Elektronen, Protonen) können direkt durch ihr elektrisches Feld Elektronen aus der Atomhülle eines Moleküls schlagen, so dass daraus geladene Atome resultieren. Dies stellt die direkte Ionisation dar. Die Wirkung der Teilchenstrahlung ist umso größer, je langsamer sie ist beziehungsweise je

größer ihre Ladung ist. Die häufig verwendeten Linearbeschleuniger nutzen beispielsweise Elektronenstrahlung, indem sie Elektronen durch ein elektrisches Hochfrequenzfeld stark beschleunigen. Die Strahlenwirkung entsteht entweder durch die Elektronen selbst oder durch die beim Aufprall auf Materie entstehenden Photonen (KANDEL, 2004; KESSLER, 2005; HERRMANN et al., 2006). Ungeladene Teilchen (Neutronen) hingegen führen zu einer indirekten Ionisation von Molekülen, indem sie von den Atomkernen absorbiert werden und daraufhin Photonen freisetzen beziehungsweise die Energie durch Rückstoß der Kerne auf andere Atome abgeben (HERRMANN et al., 2006).

Wellenstrahlung ist eine elektromagnetische Strahlenart, die ihre Wirkung ebenfalls über eine indirekte Ionisation entfaltet. Dabei herrscht bei elektromagnetischer Strahlung immer ein Dualismus zwischen den Eigenschaften einer Wellen- und einer Teilchenstrahlung vor. Die Quanten der elektromagnetischen Strahlung werden Photonen genannt und besitzen Teilcheneigenschaften. Durch Wechselwirkungen der elektromagnetischen Strahlung mit Atomen werden Photonen oder Elektronen freigesetzt, die dann einen Energietransfer ermöglichen (HERRMANN et al., 2006). Gammastrahlen beispielsweise entstehen durch den radioaktiven Zerfall eines Atomkerns. Dies ist das Funktionsprinzip von ^{60}Co -Bestrahlungsanlagen, bei welchen durch den radioaktiven Zerfall von ^{60}Co zu ^{60}Ni eine Emittierung von Gammastrahlen stattfindet. Die Halbwertszeit von ^{60}Co beträgt 5,2 Jahre.

2.3.2.2 Energiedichte der Strahlung

Bezüglich der Strahlenenergie unterscheidet man gering- und hochenergetische Strahlen, deren Energiemenge in Kilo- bzw. Mega-Elektronenvolt (keV bzw. MeV) angegeben wird. Bei hochenergetischen Strahlen handelt es sich in der Regel um Photonen- oder Elektronenstrahlung.

Die Photonenstrahlung umfasst entweder geringenergetische Röntgenstrahlung (Energiedichte etwa bis 250 keV) oder hochenergetische Gammastrahlung (Energiedichte etwa ab 200 keV). In ^{60}Co -Bestrahlungsanlagen entsteht durch Freisetzung von Gammastrahlung eine Energiedichte von etwa 1,2 MeV (KASERHOTZ et al., 1994; KANDEL, 2004; KESSLER, 2005). Linearbeschleuniger erzeugen hingegen Energiedichten von bis zu 20-25 MeV. Die hochenergetische, auch als Megavoltage bezeichnete Strahlung, ermöglicht eine große Eindringtiefe in Materie.

Dadurch können auch tiefer gelegene Tumoren oder große Tumervolumina erfolgreich bestrahlt werden (KASER-HOTZ et al., 1994).

Dabei liegt die Maximaldosis der Megavoltage-Bestrahlung nicht in der Hautoberfläche, sondern z.B. bei ^{60}Co -Bestrahlungsanlagen etwa 0,5 cm unter der Hautoberfläche, so dass ein hautschonender Effekt (sogenannter „Skin-sparing Effekt“) erzielt wird. Ursache ist der sogenannte Dosisaufbaueffekt, da die Strahlenwirkung erst durch Interaktionen mit dem bestrahlten Gewebe entsteht (KANDEL, 2004). Durch das Auflegen eines gewebeäquivalenten Bolus kann eine Strahlenwirkung jedoch auch in der Haut erzielt werden (WITHROW und VAIL, 2007).

Bei der Elektronenstrahlung kann durch Regelung der Energiemenge die Eindringtiefe in das Gewebe bestimmt werden. Dies bietet den Vorteil der Schonung gesunden peritumorösen und sehr radiosensitiven Gewebes. Zudem sind die Bestrahlungszeiten durch die höhere Dosisleistung der Elektronen kürzer als bei Photonenstrahlung (KASER-HOTZ et al., 1994).

Im Vergleich zu Megavoltage-Geräten entstehen durch sogenannte Orthovoltage-Bestrahlungseinheiten lediglich Energiemengen von bis zu 250 keV, so dass sich diese geringenergetischen Strahlungen aufgrund der geringen Eindringtiefe nur für oberflächliche Tumoren eignen (KANDEL, 2004; WITHROW und VAIL, 2007).

2.3.3 Biologische Aspekte der Strahlentherapie

2.3.3.1 Wirkungsmechanismus

Die biologische Wirkung der Strahlung hängt von der Anzahl der durch diese ausgelösten Ionisationen ab. Als indirektes Maß dafür wird der Energieverlust des Primärstrahls entlang seines Weges durch die Materie verwendet, der als linearer Energietransfer bezeichnet wird. Anhand dieses Wertes unterscheidet man dicht (z.B. Protonen- und Neutronenstrahlung) und locker (Elektronen-, Röntgen- und Gammastrahlen) ionisierende Strahlung. Allerdings ist die biologische Wirkung noch von anderen Faktoren, wie beispielsweise der Fraktionierung der Strahlendosis oder der bestrahlten Gewebeart abhängig (HERRMANN et al., 2006).

Man unterscheidet im Rahmen der biologischen Strahlenwirkung direkte und indirekte Strahlenwirkungen, wobei bei locker ionisierender Strahlung vor allem die

indirekte Wirkung eine Rolle spielt. Tritt die Energieabsorption im gleichen Molekül auf wie die biologische Wirkung, spricht man von direkter Strahlenwirkung. Bei der indirekten Strahlenwirkung kommt es zum intermolekularen Energietransfer in Form von Radikalen, die durch das Vorliegen ungepaarter Valenzelektronen reaktionsfreudige Atome beziehungsweise Moleküle darstellen (HERRMANN, et al., 2006). Da Zellen zu einem hohen Prozentsatz aus Wasser bestehen, werden vorwiegend Radikale des Wassers gebildet, die anschließend vor allem mit der DNA, aber auch mit Proteinen, interagieren (KESSLER, 2005). Der radiosensitivste Bestandteil der Zellen ist jedoch der Zellkern, da dieser die DNA enthält. Dort resultieren aus der ionisierenden Strahlung verschiedenste DNA-Brüche (KASERHOTZ et al., 1994), was zu Mutationen und dadurch irreversibel geschädigten Zellen führen kann. Pro Zelle treten etwa 4.000-5.000 Schäden, vor allem Basenschäden und Einzelstrangbrüche, auf, die jedoch meist folgenlos bleiben. Am bedeutsamsten sind die weitaus seltener auftretenden Doppelstrangbrüche. Durch Bestrahlung mit 1 Gy entstehen etwa 30 bis 40 Doppelstrangbrüche je Zelle (HERRMANN et al., 2006). Die meisten Zellen, auch Tumorzellen, verfügen jedoch über sehr potente Reparaturmechanismen, so dass der Großteil der DNA-Schäden innerhalb weniger Stunden behoben werden kann. Dabei wird der Zellzyklus um etwa zwei Stunden je Gray verlängert, um entstandene Schäden zu reparieren. Bei Manifestation eines Doppelstrangbruchs und damit einer Chromosomenaberration, tritt der Zelltod durch eine Störung der Mitose nach einigen Stunden bis Tagen ein (KESSLER, 2005). Zelltod bedeutet in der Strahlenbiologie daher vorwiegend einen Verlust der unbegrenzten Teilungsfähigkeit, die teilweise erst nach zwei bis drei Mitosen eintritt. Es kann jedoch auch zur Apoptose der betroffenen Zelle kommen, was insbesondere bei Lymphozyten und malignen Lymphomen sowie bei intestinalen Kryptenzellen beobachtet wurde. Die Zahl der Doppelstrangbrüche nimmt mit dem linearen Energietransfer einer Strahlung zu (HERRMANN et al., 2006). Zusätzlich kommt es zu einer Strahlenwirkung im Bereich der Zellmembran und der intrazellulären Signaltransduktion (v.a. Tyrosinkinase), so dass sich die Proliferationsgeschwindigkeit ändern oder die Registrierung von DNA-Schäden gestört werden kann (HERRMANN et al., 2006).

Da insbesondere Zellen in ihrer aktiven Proliferationsphase, der Mitose, und am Übergang von der G1- in die S-Phase strahlenempfindlich sind, sind insbesondere maligne und schnell wachsende Tumoren strahlensensibel (KASER-HOTZ et al., 1994; KESSLER, 2005). Aber auch sich physiologisch teilende Zellen, wie Mukosa-, Epidermis- und Knochenmarkszellen, werden geschädigt. Daraus ergeben sich die akuten Nebenwirkungen für den Organismus (KESSLER, 2005).

Schäden können auch an langsam oder nicht mehr proliferierendem Gewebe, wie Knochen- oder Nervengewebe, auftreten. Aufgrund der langsamen Teilungsvorgänge kommt es zu einem verzögerten Auftreten der Nebenwirkungen, die sich meist erst nach Monaten oder Jahren als Spätreaktion äußern. Hierbei handelt es sich unter anderem um Nekrosen von Knochen- und Nervengewebe oder eine Kataraktbildung (KASER-HOTZ et al., 1994; WITHROW und VAIL, 2007).

2.3.3.2 Antitumoröse Wirkung

Aufgrund der meist hohen Proliferationsgeschwindigkeit von Tumoren sind diese in der Regel strahlensensitiv. Es gibt jedoch auch hier, wie bei physiologischem Gewebe, Unterschiede in der Radiosensitivität. Meist reagieren Tumoren, die aus radiosensitiven Geweben entstehen, ebenfalls sensitiv auf eine Bestrahlung. Es spielen im Rahmen der Therapie aber noch weitere Faktoren, wie Hypoxie oder Heterogenität innerhalb des Tumorgewebes, eine Rolle (KASER-HOTZ et al., 1994). Generell wird die Tumorreaktion auf eine Bestrahlung unterteilt in Tumorremission, Tumorwachstumsverzögerung und Tumorkontrolle (HERRMANN et al., 2006).

Eine Tumorremission, also Reduktion des Tumolvolumens, ist nicht zwangsläufig während der Bestrahlung festzustellen, da meist nur die uneingeschränkte Teilungsfähigkeit der Zellen verhindert wird. Daher hat ein kurzzeitiges Weiterwachsen des Tumors oder eine Größenstabilität zunächst keinen Einfluss auf die Prognose. Eine schlechte Prognose besteht lediglich dann, wenn ein längerfristiges Wachstum oder kein ausreichender Rückgang nach mehreren Wochen zu verzeichnen ist. Eine dosisabhängige Tumorwachstumsverzögerung tritt insbesondere bei strahlensensiblen Tumoren auf, die aufgrund eines weit fortgeschrittenen Stadiums oder ähnlichem nur noch palliativ therapierbar sind. Dabei kann eine vorübergehende partielle oder totale Remission beziehungsweise eine

Stagnation der Tumormasse eintreten, der nach einiger Zeit ein erneutes Tumorwachstum folgt. Dieses ist häufig jedoch langsamer, da das Gefäßnetz ebenfalls geschädigt wird (HERRMANN et al., 2006). Die kurative Bestrahlung zielt hingegen meist auf eine lokale Tumorkontrolle und damit eine vollständige Eliminierung der Tumorzellen. Generell lässt sich hierbei sagen, dass die Wahrscheinlichkeit der Tumorelimination mit steigender Strahlendosis zunimmt. Es gibt jedoch weitere Einflussfaktoren auf die Tumorkontrollwahrscheinlichkeit. Ein wichtiger Aspekt ist das vorliegende Tumolvolumen, da im Allgemeinen die notwendige Strahlendosis mit der Tumorgröße ansteigt. Zudem liegen bei größeren Tumoren häufig hypoxische Bereiche vor, die weit weniger strahlensensibel sind. Auch die Tumorphistologie spielt eine wichtige Rolle, da es sehr strahlensensible Arten (z.B. Lymphome), intermediär sensible Arten (z.B. Adenokarzinome) und auch strahlenresistente Tumorarten (z.B. Osteosarkome) gibt (HERRMANN et al., 2006).

Wie bereits erwähnt hat die Oxygenierung des Tumorgewebes einen wichtigen Einfluss auf die Strahlensensibilität. Peripher um nekrotische Bezirke gelegene Areale weisen eine diffusionsbedingte Hypoxie auf, während Bereiche mit temporären Gefäßverschlüssen oder -mißbildungen eine perfusionsbedingte Hypoxie aufweisen. Hypoxische Tumoren zeigen ein maligneres Wachstumsverhalten, sind therapieresistenter und neigen eher zu einer Metastasierung. Bei klinisch relevanten Bestrahlungsdosen sind anoxische Zellen etwa um den Faktor 2,5 bis 3 geringer strahlenempfindlich als oxygenierte Zellen (ECKSTEIN et al., 2006). Durch eine Strahlentherapie können somit unter Umständen die maligneren hypoxischen Zellen eines Tumors selektiert und in ihrem Wachstum gefördert werden. Es kommt bei einer Fraktionierung der Strahlendosis in den Zwischenzeiten jedoch zu einer Reoxygenierung, z.B. durch Öffnung temporär verschlossener Gefäße oder eine verbesserte Mikrozirkulation durch den abnehmenden Tumorgewebedruck (HERRMANN et al., 2006).

2.3.3.3 Gesamtbehandlungszeit

Dieser Begriff umfasst die gesamte Dauer der Strahlentherapie inklusive der Tage, an denen keine Bestrahlung durchgeführt wird. Die lokale Tumorkontrolle verschlechtert sich aufgrund der eintretenden Repopulation mit einer zunehmenden Gesamtbestrahlungszeit, daher sollte diese so kurz wie möglich gehalten werden. Ist

dies nicht möglich, steigt die notwendige Strahlendosis zur Tumorkontrolle an (HERRMANN et al., 2006).

2.3.3.4 Gesamtbestrahlungsdosis und Fraktionierung

Um eine bestmögliche Schonung des gesunden Gewebes zu erzielen, ist seit langem bekannt, dass eine Aufteilung der Gesamtdosis in mehrere kleine Einzeldosen, die sogenannte Fraktionierung, einen positiven Effekt auf die Nebenwirkungsrate hat. Für diesen Effekt sind vier verschiedene Mechanismen verantwortlich, die zur intrazellulären Erholung und damit höheren Überlebensrate insbesondere physiologischer Zellen führen. Daraus ergibt sich jedoch auch, dass für eine Abtötung der tumorösen Zellen durch Anwendung einer Fraktionierung höhere Gesamtbestrahlungsdosen notwendig sind als bei einer einzigen Bestrahlung. Zwischen den Einzelfractionen muss ein Mindestabstand von etwa 6-8 Stunden eingehalten werden, um die Regeneration gesunder Zellen zu gewährleisten (HERRMANN et al., 2006).

Es werden die folgenden vier Mechanismen unterschieden:

1. Regeneration

Im Rahmen der Regeneration tritt eine Reparatur der DNA-Schäden vor allem bei physiologischen Zellen auf. Diese Abläufe sind in physiologischem Gewebe sehr effektiv und schnell, so dass nach etwa 24 Stunden nahezu alle Strahlenschäden behoben sind.

2. Reoxygenierung

Die Reoxygenierung des bestrahlten Gewebes in der bestrahlungsfreien Zeit spielt eine wichtige Rolle, da hypoxisches Gewebe aufgrund einer geringeren Radikalbildung strahlenresistenter ist (ECKSTEIN et al., 2006). Da Tumorzellen ohnehin meist eine schlechtere Gefäß- und damit Sauerstoffversorgung aufweisen als physiologisches Gewebe, ist diese Reoxygenierung besonders bedeutsam.

Ein positiver Effekt tritt beispielsweise durch das partielle Absterben der Tumorzellen im Rahmen der Fraktionierung ein, da daraus für die verbleibenden Zellen ein höheres Maß an Sauerstoff beziehungsweise eine kürzere Reichweite zu den Gefäßen resultiert.

3. Repopulation

Auch die Repopulation von Zellen aus dem Ruhezustand (G_0 -Phase) in die Teilungsaktivität, um den Zellverlust zu ersetzen, führt zu einem strahlensensitivierenden Effekt im Rahmen der Fraktionierung der Strahlendosis. Es wird von einem Phänomen der sogenannten „akzelerierten Repopulation“ berichtet, die besagt, dass nach längerer Bestrahlungsdauer über etwa vier Wochen eine schnellere Repopulation stattfindet, als sie initial vorlag. Dies gilt jedoch nur für schnell proliferierende Gewebearten, wobei die genaue Ursache hierfür noch nicht bekannt ist. Die Nebenwirkungen an langsam proliferierendem Gewebe sind überwiegend abhängig von der Bestrahlungsdosis und dem Abstand zwischen den einzelnen Fraktionen.

4. Redistribution

Ein ebenso wichtiger Faktor für die Vorteile der Fraktionierung ist die normale Redistribution, das heißt der normale Eintritt in die strahlensensitiven Zellzyklusphasen. Dadurch können beispielsweise Zellen, die sich zuvor in der am wenigsten strahlensensiblen Phase, der S-Phase, befunden haben, geschädigt werden (WITHROW und VAIL, 2007).

Die Gesamtbestrahlungsdosis ist ein wichtiger Parameter für die Bestrahlungswirkung, hingegen hat die Fraktionsdosis bei gleicher Gesamtbestrahlungszeit in der Regel keinen Einfluss auf die Tumorkontrolle (HERRMANN et al., 2006). Es hat sich jedoch gezeigt, dass bei gleicher Gesamtbestrahlungsdosis chronische Nebenwirkungen mit einer höheren Wahrscheinlichkeit im Rahmen hoher Einzelfraktionen auftreten (WITHROW und VAIL, 2007). Daher kann durch Fraktionierung einer hohen Gesamtbestrahlungsdosis in kleine Einzeldosen eine Vermeidung von chronischen Nebenwirkungen mit bestmöglicher Wirkung auf die Tumorzellen erzielt werden. Dosislimitierend bleibt die jeweilige Sensibilität des spät reagierenden gesunden Gewebes im Bestrahlungsgebiet. Beispielsweise toleriert Knochen- und Muskelgewebe eine höhere Gesamtbestrahlungsdosis als das zentrale Nervensystem (HERRMANN et al., 2006).

Insbesondere bei Tumoren der Kopf-Hals-Region wurde festgestellt, dass sogenannte akzelerierte Protokolle zu besseren Resultaten führen können. Hierbei wird die konventionell festgelegte Gesamtbestrahlungsdosis in einer verkürzten Zeit appliziert, so dass meist mehrere Fraktionen pro Tag appliziert werden. Auf diese Weise kann die Repopulation der Tumorzellen reduziert werden, wodurch das Risiko für Nebenwirkungen am Normalgewebe jedoch ansteigt (HERRMANN et al., 2006).

2.3.3.5 Bestrahlungsprotokolle

Hinsichtlich der Zielsetzung unterscheidet man kurative und palliative Bestrahlungsprotokolle. Kurative Protokolle verfolgen das Ziel einer Heilung oder langfristigen Tumorfreiheit (WITHROW und VAIL, 2007). Palliative Protokolle zielen insbesondere auf eine Verbesserung der Lebensqualität, eine Schmerzlinderung oder eine Funktionalitätsverbesserung. Daher eignet sich diese Form der Bestrahlung insbesondere bei Tumoren, die eine hohe Metastasierungsrate aufweisen oder weit fortgeschritten sind (WITHROW und VAIL, 2007). Aber auch bei älteren Patienten mit insgesamt geringer Lebenserwartung, erhöhtem Narkoserisiko oder weiteren Erkrankungen empfiehlt sich diese Therapieform.

2.3.3.6 Nebenwirkungen

Nebenwirkungen sind unerwünschte Wirkungen der Strahlentherapie und entstehen durch die Auswirkungen auf das Normalgewebe des Organismus, insbesondere auf stark proliferierende Gewebearten. Aber auch an weniger teilungsaktivem Gewebe können Nebenwirkungen entstehen. Daher ist die Dosisfestlegung immer eine Gradwanderung zwischen erwünschten und unerwünschten Wirkungen, wodurch die applizierbare Dosis zur Tumorthherapie eingeschränkt wird (HERRMANN et al., 2006). Systemische Nebenwirkungen, wie Nausea, treten nur auf, wenn das Bestrahlungsfeld den Magen-Darm-Trakt umfasst (KASER-HOTZ et al., 1994).

Man unterteilt je nach Zeitpunkt des Auftretens akute und chronische Nebenwirkungen. Akute Nebenwirkungen treten in der Regel bereits während oder kurze Zeit nach der Bestrahlungstherapie auf und sind in den meisten Fällen reversibel. Im Gegensatz dazu werden chronische Nebenwirkungen meist erst nach einer symptomlosen Latenzzeit von mehreren Wochen, Monaten oder Jahren auffällig und sind häufig irreversibel (KANDEL, 2004; HERRMANN et al., 2006).

Die häufigsten akuten Nebenwirkungen der Strahlentherapie stellen eine Dermatitis und Mukositis im Bestrahlungsfeld dar, da es sich bei Epithelien um schnell proliferierendes Gewebe handelt (KANDEL, 2004). Solche stark proliferierenden Gewebe, wozu auch das Darmepithel, das Epithel der Augen und das Knochenmark zählen, neigen am häufigsten zu akuten Nebenwirkungen. Bei der Dermatitis handelt es sich meist um eine trockene Schuppung oder nässende Desquamation, teilweise auch mit erosiven oder ulzerativen Veränderungen. Die Ursache dieser Nebenwirkungen ist der vorübergehende Verlust der Stammzellen in der germinativen Schicht, so dass keine ausreichende Zellerneuerung stattfinden kann. Die Stammzellen erholen sich in der Regel innerhalb von 7 bis 10 Tagen, wodurch die Reaktionen relativ zeitnah wieder abheilen. Teilweise kommt es in der Haut zu einer subkutanen radiogenen Fibrose, bei der das subkutane Fettgewebe abnimmt und die Kollagenbildung zunimmt. Dadurch verliert die Haut an Elastizität. Die Entstehung von Nekrosen ist bei den in der Veterinärmedizin angewendeten Protokollen äußerst selten (KASER-HOTZ et al., 1994).

An den Augen kann es akut zu einer Keratokonjunktivitis kommen, die reversibel ist. Eine weitere häufige Nebenwirkung, bereits bei moderaten Gesamtbestrahlungsdosen, stellt eine verminderte Lakrimation dar. Wird die Tränenflüssigkeit nicht ersetzt, droht die Entstehung einer Keratokonjunktivitis sicca, woraus eine Ulzeration der Kornea entstehen kann (KASER-HOTZ et al., 1994; HERRMANN et al., 2006).

Die Ausprägung der akuten Nebenwirkungen ist abhängig von der Gesamtbestrahlungsdosis, da die Anzahl der geschädigten Stammzellen dosisabhängig ist. So kommt es vor allem durch große Fraktionszahlen mit einer hohen Gesamtbestrahlungsdosis, wie sie bei kurativen Protokollen angewendet werden, zu einer klinischen Schädigung des Gewebes aufgrund unzureichender Repopulation durch einen Mangel an teilungsaktiven Stammzellen (HERRMANN et al., 2006).

Durch die Fraktionierung wird die Häufigkeit von akuten Nebenwirkungen gegenüber hohen Einzeldosen aber auch gesenkt und damit die Toleranz des Gewebes erhöht. Dies ist stark abhängig von der jeweiligen Dosishöhe der Fraktionen, da die Ursache dieses Effekts die Erholung des Gewebes von subletalen Strahlenschäden darstellt.

Diese Regeneration ist zudem gewebe- und zeitabhängig, so dass eine Mindestzeit von etwa 6-8 Stunden zwischen den Fraktionen eingehalten werden sollte, um eine vollständige Erholung zu ermöglichen (HERRMANN et al., 2006). In der Regel heilen akute Strahlenschäden bereits wenige Wochen nach Bestrahlungsende wieder ab und sind selbstlimitierend (WITHROW und VAIL, 2007). Im Allgemeinen sind solche akuten Nebenwirkungen der Bestrahlung in ihrer Intensität und Auswirkung auf die Lebensqualität des Patienten in den meisten Fällen akzeptabel (THEON et al., 1993).

Zusätzlich zu den sich in ständiger Proliferation befindlichen Geweben entstehen auch Strahlenschäden an Geweben, die nicht mehr oder kaum noch teilungsaktiv sind. Insgesamt entstehen an solchen Zellen häufiger chronische Nebenwirkungen, da die Zellen durch die DNA-Schäden nicht letal geschädigt werden und zunächst weiterhin ihre physiologische Funktion erfüllen. Erst zum Zeitpunkt der nächsten Mitose wird die Schädigung erkennbar, da diese nicht mehr möglich ist. Somit werden die Schädigungen erst nach einer subklinischen Latenzzeit auffällig, wobei deren Länge negativ mit der Strahlendosis korreliert ist. Insbesondere Gefäßendothelien des Kapillarnetzes werden dabei geschädigt und sind häufig die Ursache für Spätreaktionen verschiedenster Gewebe. Neben diesen vaskulären Schädigungen spielt aber auch die sogenannte intrinsische Strahlenempfindlichkeit des eigentlichen Organparenchyms sowie der bindegewebigen Strukturen eine Rolle. Bei letzteren kann eine strahleninduzierte Differenzierung der Fibroblasten zu Fibrozyten erfolgen, aus der eine starke Kollagenbildung resultiert, so dass primäre Fibrosen entstehen (HERRMANN et al., 2006). Zu den langsam proliferierenden Geweben zählen beispielsweise Knochen, Lunge, Herz, Nerven, Augen und Nieren. Die intrinsische Strahlenempfindlichkeit ist beispielsweise bei der Augenlinse sehr hoch, beim adulten Knochen aber gering.

Chronische Nebenwirkungen können auch bei schnell proliferierendem Gewebe auftreten. Da für chronische Reaktionen in der Regel keine oder inadäquate Regenerationsmechanismen existieren, kommt es auf diese Weise zu Nekrosen oder Fibrosen und damit unter Umständen zum Verlust der Funktionalität (HERRMANN et al., 2006; WITHROW und VAIL, 2007). In der Haut entsteht als chronische Nebenwirkung häufig eine Alopezie im Bestrahlungsfeld, die temporär oder permanent bestehen kann. Durch die Zerstörung von Melanozyten kommt es zudem

häufig zu einer veränderten Fellfarbe, vorzugsweise einer Leukotrichie (WITHROW und VAIL, 2007). Als Spätfolge an den Augen kann eine Katarakt mit langsam progressiver Erblindung auftreten, deren Entstehung jedoch meist über mehrere Jahre verläuft. Im Gegensatz zur altersbedingten Katarakt ist bei der strahleninduzierten Form der Beginn am hinteren Linsenpol typisch (HERRMANN et al., 2006). Bei Bestrahlungsdosen von über 40 Gy kann eine degenerative Angiopathie am Auge auftreten, die eine langsame Progression zeigt und letztendlich in einer Retinadegeneration und einer sekundären Sehnervdegeneration resultiert (WITHROW und VAIL, 2007). Knochen-, Knorpel-, Muskel- und Bindegewebe sind relativ strahlenresistent und zeigen Spätreaktionen erst bei hohen Gesamtbestrahlungsdosen (HERRMANN et al., 2006).

Lange Zeit erfolgte die Einteilung der Nebenwirkungen nach Richtlinien der Humanmedizin, aber seit dem Jahr 2001 existieren nun auch spezielle Richtlinien für die Veterinärmedizin (LA DUE und KLEIN, 2001).

2.3.4 Kombination einer Bestrahlung mit NSAIDs

In den letzten Jahren sind in-vitro und in-vivo Studien publiziert worden, die auf eine Potenzierung der Bestrahlungswirkung bei Kombination mit einem NSAID hindeuten (FURUTA et al., 1988; MILAS et al., 1990; MILAS et al., 1999; PETERSEN et al., 2000; PYO et al., 2001; RAJU et al., 2002; LIU et al., 2003; GRIMES et al., 2006).

MILAS et al. (1999) beschrieben, dass es durch Gabe eines selektiven COX-2 Inhibitors (SC-236) im Vorfeld einer Gammabestrahlung von Prostaglandin-produzierenden NFSA Sarkomen bei Mäusen, die sich als relativ strahlenresistent erwiesen haben, zu einer deutlichen Steigerung der Strahlenwirkung kam. Die Wachstumsverzögerung der Kombinationstherapie war höher als die Summe der Einzeltherapien, wodurch die Wirksamkeit der Bestrahlung um den Faktor 3,6 angehoben wurde. Im Vergleich dazu lagen die Werte durch die Kombination von Bestrahlung und Indomethacin, einem nicht-selektiven COX-Inhibitor, zwar auch über den Werten einer alleinigen Bestrahlung, aber unter den Werten einer Kombination mit dem selektiven COX-2 Hemmstoff SC-236 (FURUTA et al., 1988).

Die Gründe für diese radiopotenzierende Wirkung sind weitestgehend unbekannt. Beschrieben wurde unter anderem, dass eine Hemmung der Prostaglandinsynthese

zu einer Akkumulation von Zellen in den strahlensensiblen G₂- und M-Zellzyklusphasen führt (MILAS et al., 1999; RAJU et al., 2002; LIU et al., 2003), was nicht in allen Studien bestätigt werden konnte (PETERSEN et al., 2000). Eine weitere fördernde Ursache könnte die Steigerung der Immunkompetenz des Patienten gegenüber den Tumorzellen darstellen. In der Untersuchung von MILAS et al. (1990) konnte gezeigt werden, dass die Immunkompetenz des Patienten für die Wirkung von Indomethacin allein nicht bedeutsam war, jedoch für die Potentierung einer fraktionierten Bestrahlung einen signifikanten Effekt hatte. Eine weitere radiopotenzierende Wirkung der NSAIDs stellt möglicherweise die Hemmung der Angiogenese und damit eine verminderte Perfusion von Tumorarealen dar (LIU et al., 2003). Durch SC-236 konnte bereits eine signifikante Reduktion der Angiogenese nachgewiesen werden, die zu einer Verlangsamung des Tumorwachstums führte (MILAS et al., 1999). In einer weiteren Studie mit einer SC-236-Monotherapie konnte in-vitro und in-vivo eine Apoptoseinduktion und bei Kombination mit einer Bestrahlung eine Steigerung der Radiosensitivität der überlebenden Zellen um den Faktor 1,4 festgestellt werden. Eine Steigerung der Apoptose bei Kombination mit Bestrahlung wurde jedoch nicht beobachtet (PETERSEN et al., 2000), was in einer weiteren Untersuchung bestätigt wurde (RAJU et al., 2002). Letztere wies eine Hemmung der Reparatur subletaler Strahlenschäden nach und stellte eine Potentierung der Strahlenwirkung um den Faktor 1,5 fest (RAJU et al., 2002). Eine deutliche Steigerung der Apoptose konnte nach Einsatz eines weiteren selektiven COX-2 Inhibitors nachgewiesen werden, welche sich jedoch auf COX-2 exprimierende Zellen beschränkte (PYO et al., 2001). In einer Studie von GRIMES et al. (2006) konnte eine Suppression von NF-kappaB abhängigen Zielgenen, wozu vermutlich auch das Gen für COX-2 gehört, durch einen COX-2 Hemmstoff in Kombination mit einer Bestrahlung nachgewiesen werden. Diese Gene gelten als zytoprotektiv und werden durch eine Bestrahlung normalerweise induziert. Die exakten Mechanismen der Strahleninduktion sind jedoch noch weitestgehend unbekannt.

2.4 Immunhistochemie

2.4.1 Definition und Wirkungsweise

Mittels Immunhistochemie können spezifische, antigentragende Strukturen in histologischen Präparaten durch Bindung von Antikörper-Farbkomplexen visuell dargestellt werden (PSCHYREMBEL, 1998). Hierzu wird die Spezifität der Antigen-Antikörper-Reaktionen genutzt, insbesondere da mittlerweile zahlreiche monoklonale Antikörper zur Verfügung stehen (ROESSNER et al., 2004). Die Antigenmenge nimmt durch Vernetzungen zwischen den Proteinmolekülen und Zerstörung des Proteinaufbaus durch Formalin mit der Dauer der Fixation deutlich ab. Daher sollte eine Fixationsdauer von über 48 Stunden vermieden werden (LEONG, 2004).

Da Antigene in formalinfixierten Präparaten teilweise durch oben genannte Veränderungen nicht mehr detektierbar sind, müssen diese zunächst wieder „demaskiert“ werden. Dies geschieht beispielsweise durch eine kurze Andauung mit Proteinasen oder Hitzeeinwirkung (LEONG, 2004).

2.4.2 Auswertung

Die Auswertung erfolgt in der Regel mittels lichtmikroskopischer Begutachtung. Ein einheitlicher, gut definierter internationaler Bewertungsstandard existiert bisher nicht (TREMBLAY et al., 1999; KHAN et al., 2000; GAFFNEY et al., 2001; LEONG, 2004). Eine Standardisierung der Proben ist an Paraffinschnitten nicht möglich, so dass keine exakte Vergleichbarkeit gewährleistet ist. Ursache hierfür sind intrinsische und extrinsische Faktoren der Proben, die Einfluss auf die Antigendarstellung nehmen. Die intrinsischen Faktoren, wie Fixation und Fixationszeit, lassen sich nicht vereinheitlichen. Im Gegensatz dazu können die extrinsischen Faktoren, wie Antikörperanwendung, Färbeverfahren und Antigenbereitstellung sowie Auswertung und Grenzwertfestsetzung standardisiert werden (LEONG, 2004).

In der Regel erfolgt zunächst eine Beurteilung der Lokalisation der Immunkomplexe. So kann bei Tumoren insbesondere zwischen intratumoraler und peritumoraler Lage unterschieden werden. Bezogen auf die einzelne (Tumor)Zelle wird insbesondere

zwischen zytoplasmatischer, nukleärer und membranöser Lokalisation unterschieden (LEONG, 2004).

Ob eine Probe als positiv für das jeweilige Antigen definiert wird, unterliegt ebenfalls keinen einheitlichen Vorgaben. Je nach Antigen und Labor existieren unterschiedliche Grenzwerte. Meist werden Proben mit mehr als 10% angefärbter Zellen als positiv für dieses Antigen gewertet (LEONG, 2004).

Die semiquantitative Auswertung erfolgt häufig über die Evaluierung von Verteilung und Intensität der Färbung. Dies wird in der Regel subjektiv durch den Untersuchenden beurteilt, da auch computerisierte Auswertungsverfahren bisher eine beachtliche Differenz in den Messungen gezeigt haben. Eine exakte quantitative Auswertung ist folglich nicht möglich (LEONG, 2004).

Im Rahmen jeder immunhistochemischen Untersuchung werden Negativ- und Positivkontrollen verwendet, um die Funktionalität der Färbemethode darzustellen. Bei letzteren handelt es sich um Proben, die sich immer positiv für das zu detektierende Antigen darstellen (LEONG, 2004).

2.4.3 Immunhistochemischer Nachweis der Cyclooxygenase

Ein Verfahren zum immunhistochemischen Nachweis von COX-1 und COX-2 wurde bereits Anfang der 1990er Jahre etabliert (KARGMAN et al., 1995; PESTILI DE ALMEIDA et al., 2001). Dazu wurden selektive polyklonale Antikörper gegen Cyclooxygenase-Antigene durch Injektion oviner Cyclooxygenase-Proteine aus der Samendrüse (COX-1) oder Plazenta (COX-2) in Kaninchen entwickelt. Die Selektivität für die jeweilige humane Cyclooxygenase-Isoform lag ungefähr 1000fach höher als für die jeweils andere Isoform. Es konnten zudem keine signifikanten Kreuzreaktionen zwischen den beiden Isoformen festgestellt werden (KARGMAN et al. 1995; TREMBLAY et al. 1999). Häufig werden auch humane COX-Antikörper in tiermedizinischen Studien angewendet, deren Selektivität ebenfalls bereits validiert wurde (HELLER et al., 2007). Die Cyclooxygenase-Immunhistochemie ist in Form kommerzieller Tests verfügbar, beispielsweise wurde das Verfahren des COX-Nachweises mittels *Vectastain ABC kit* bereits mehrfach angewendet und publiziert (TREMBLAY et al., 1999).

Als Positivkontrolle für die Funktionalität der angewendeten COX-2 Immunhistochemie-Färbung eignet sich Nierengewebe, da dieses in der Macula densa und dem Tubulusepithel der aufsteigenden Henle-Schleife konstitutionell COX-2 aufweist. Am ausgeprägtesten ist die Intensität in neonatalem oder juvenilen Nierengewebe (KHAN et al., 2001).

In bisherigen Untersuchungen hat sich in den COX-2-positiven histologischen Tumorseiten überwiegend eine heterogene, zytoplasmatische Färbung gezeigt. COX-exprimierende Zellen stellten meist einen Anteil von <5% bis 40% der Gesamtzellzahl dar (MOHAMMED et al., 2006).

2.4.4 Vergleich Western Blot – Immunhistochemie

Die Immunhistochemie ermöglicht eine semiquantitative Auswertung der COX-2 Expression an histologischen Präparaten durch subjektive Einteilung der Ergebnisse in Gruppen mit unterschiedlicher Färbeverteilung und -intensität. Eine präzisere Angabe der COX-2 Quantität ist jedoch aufgrund der subjektiven Einteilung kaum möglich.

Vorteil dieser Methode ist die Möglichkeit zur Beurteilung der Lokalisation der COX-2 Expression sowie deren Verteilung und Intensität innerhalb der Zellen. Nachteilig sind die geringere Sensitivität im Vergleich zum Western Blot und die ungenauere Quantifizierungsmöglichkeit (DORE, 2011).

Eine genauere quantitative Messung der COX-2 ist mittels Western Blot möglich, zudem kann über das Molekulargewicht eine einfache Unterscheidung der COX-Isoformen getroffen werden (HELLER et al., 2007; DORE, 2011).

Im Rahmen des Western Blot werden kleine Probenmengen homogenisiert und die größeren Bestandteile (Membranen, Zellkerne und Mitochondrien) abgetrennt. Nach erneuter Zentrifugation wird der Überstand, der die Proteinfractionen enthält, für die Analyse verwendet. Die Proteine werden mit SDS-PAGE (Sodiumdodecylsulfat-Polyacrylamid Gel) durchmischt, auf Nitrozellulosemembranen übertragen und elektrophoretisch nach Fractionen aufgetrennt. Anschließend werden die selektiven primären Antikörper hinzugegeben. Die Visualisierung erfolgt auch hier meist über einen Peroxidase-konjugierten sekundären Antikörper. Die Menge der absorbierten Antikörper kann dann beispielsweise mit einem computerisierten Densitometer ausgemessen werden, so dass auf diese Weise eine genauere

Quantifizierung erfolgt (KARGMAN et al., 1995; TREMBLAY et al., 1999; PESTILI DE ALMEIDA et al., 2001).

In einer Studie von HELLER et al. (2007) stellte sich der Western Blot als zuverlässigere Messmethode im Vergleich zur Immunhistochemie dar, da bei letzterer vermutlich unspezifische Bindungen auftreten können. Es ist jedoch nicht möglich durch den Nachweis einer COX-2 Expression einen Rückschluss auf die Funktionalität des Enzyms zu ziehen.

Nachteile des Western Blots sind insbesondere, dass dieser nicht an asserviertem Probengut angewendet werden kann und dass keine Zuordnung der Lokalisation der COX-2 Expression möglich ist. Daher kann auf diese Weise nicht zwischen einer peritumorösen oder tumorösen Expression unterschieden werden (DORE, 2011).

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Immunhistochemische Studie

3.1.1.1 Probengut

Zur Evaluierung der COX-2 Expression in einer größeren Anzahl kaniner intranasaler Tumoren, unter Ausnahme intranasaler Lymphome, wurden alle histologischen Proben entsprechender Neoplasien einbezogen, die im Zeitraum vom 01. Januar 2003 bis 30. September 2007 in der Fachpraxis für Tierpathologie Dr. W. von Bomhard & Dr. S. Pfleghaar in München diagnostiziert wurden. Aus diesen Proben erfolgte durch zwei unabhängige Fachtierärzte für Pathologie (Dr. W. von Bomhard, Dr. S. Pfleghaar) eine Selektion der Proben hinsichtlich einer eindeutigen Zuordnung zu einer bestimmten Tumorart anhand der *WHO International Histological Classification of Tumors of the Respiratory System of Domestic Animals* (DUNGWORTH et al., 1999) und dem Vorliegen von mindestens einhundert neoplastischen Zellen je Probe. Die Diagnose wurde überwiegend lichtmikroskopisch anhand von Haematoxin und Eosin (HE) gefärbten histologischen Schnitten gestellt. Aufgrund der eingeschränkten diagnostischen Sicherheit von Ästhesioneuroblastomen anhand von HE-Schnitten wurden entsprechende Proben zusätzlich immunhistochemisch mittels Neuronenspezifischer Enolase (NSE), Zytokeratin und Synaptophysin untersucht.

Insgesamt wurden anhand dieser Kriterien 109 Schnitte von fünf häufig in der Nasenhöhle vorkommenden Tumorarten ausgewählt (Adenokarzinom, Plattenepithelkarzinom, Übergangsepithelkarzinom, Undifferenziertes Karzinom und Chondrosarkom), wobei für jede Tumorart mindestens 20 Proben zur Verfügung standen. Zusätzlich wurde das Ästhesioneuroblastom als seltenere Tumorart neuroepithelialen Ursprungs miteinbezogen. Aufgrund der oben genannten diagnostischen Einschränkung wurden 27 histologische Schnitte, die in der HE-Färbung Kriterien für diese Tumorart erfüllten, zusätzlich immunhistochemisch untersucht. Auf diese Weise konnten jedoch lediglich fünf Proben als Ästhesioneuroblastom verifiziert werden (NSE positiv, Synaptophysin positiv,

Zytokeratin negativ). Die übrigen 22 Proben wurden aufgrund der unbestätigten Diagnose nicht in die Auswertung involviert. Somit wurden insgesamt 114 Proben zur Auswertung der tumoreigenen COX-2 Expression immunhistochemisch gefärbt und ausgewertet.

Ein Überblick über die jeweilige Probenanzahl der sechs ausgewählten Tumorarten ist in **Tabelle 3-1** gegeben.

Tabelle 3-1: Zusammenfassung der zum immunhistochemischen Nachweis der COX-2 Expression ausgewählten Tumorarten sowie ihrer jeweiligen Probenanzahl

Tumorart	Probenanzahl
Adenokarzinom	23
Plattenepithelkarzinom	21
Übergangsepithelkarzinom	20
Undifferenziertes Karzinom	23
Chondrosarkom	22
Ästhesioneuroblastom	5
Summe	114

3.1.1.2 Färbemethode

Die immunhistochemische Färbung zur Darstellung des COX-2 Enzyms in den ausgewählten histologischen Proben wurde an der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich durch Prof. Dr. F. Guscetti durchgeführt. Hierzu wurde ein polyklonaler Antikörper¹ gegen murines COX-2 verwendet. Zur Färbung wurden 5 µm dicke Paraffinschnitte der ausgewählten Proben auf positiv geladene Glasobjektträger² aufgetragen. Anschließend erfolgte die Trocknung über Nacht bei 37°C, der eine Deparaffinisierung und Rehydratation der Proben folgten. In einem Dampfdruckkocher („Pascal“³) wurden die Objektträger nachfolgend in Tris/EDTA-Puffer bei 98°C für zwanzig Minuten zur Antigenwiederherstellung behandelt. Nach Abkühlung über zehn Minuten wurden die weiteren Färbeschritte bei Raumtemperatur mittels eines automatisierten Färbeschemas durchgeführt (Autostainer³), das für jegliche immunhistochemische Färbungen von Gewebeschnitten oder zytologischen Ausstrichen geeignet ist. In einem ersten

¹ cat. Nummer 160126, Cayman Chemical Company, Ann Arbor, Michigan 48108, USA

² Superfrost Plus, Menzel, Braunschweig, Deutschland

³ Dako Denmark A/S, Glostrup, Dänemark

Schritt wurden die Proben mit dem primären Antikörper (Verdünnung 1:250) inkubiert. Anschließend wurde eine Peroxidaselösung⁴ zur Inaktivierung der endogenen Peroxidase über zehn Minuten hinzugegeben. Die Detektion des primären Antikörpers erfolgte mittels eines kommerziellen Detektionsverfahrens nach den Herstelleranweisungen⁴. Durch Zugabe eines AEC (3-Amino-9-Ethylcarbazol) Chromogens⁴, welches als Substrat für das Enzym Peroxidase dient, wurden die Antigen-Antikörper-Reaktionen in Form einer rötlichen Färbung visualisiert. Nach Gegenfärbung mit Haematoxin erfolgte die lichtmikroskopische Auswertung der Proben.

Als Positivkontrolle der Färbemethode diente formalinfixiertes, paraffinisiertes Nierengewebe eines juvenilen Hundes, da dieses konstitutionell COX-2, insbesondere in der Macula densa, exprimiert. Als Negativkontrolle wurden Proben nach oben genanntem Färbeschema ohne Zugabe des primären Antikörpers behandelt.

3.1.1.3 Auswertungsschema

Die Auswertung erfolgte durch einen Diplomate des European College of Veterinary Pathology (ECVP) (Dr. W. von Bomhard) unter Verblindung bezüglich der vorliegenden Tumorart. Die Auswertung umfasste vier Kriterien, die im Folgenden näher erläutert werden.

1. Übergeordnete Einteilung der COX-2 Färbeintensität in drei Grade (fehlend, schwach oder einer Kombination aus starker und schwacher Färbung), wozu lediglich neoplastische Zellen, in Abgrenzung zu Zellen des Tumorstromas oder der Tumorumgebung, berücksichtigt wurden.

⁴ Dako Denmark A/S, Glostrup, Dänemark

2. Beurteilung der Verteilung der COX-2 Färbung bzw. des Anteils positiv färbender Zellen im Tumorgewebe. Dazu wurde eine prozentuale Einteilung der COX-2-positiven Zellzahlen in fünf Grade (Verteilungsscore), wie in **Tabelle 3-2** dargestellt, vorgenommen. Es ist zu beachten, dass diese Einteilung methodikbedingt subjektiv erfolgte und keine exakte Quantifizierung ermöglichte. Generell stellt die Immunhistochemie aufgrund verschiedener Einschränkungen eine semiquantitative Methode dar (siehe Kapitel 2.4.2).

Proben, die dem Score 1 (<5% COX-2-positive Zellen) zugeordnet wurden, wurden als COX-2-negativ bewertet.

Tabelle 3-2: Semiquantitative Einteilung des prozentualen Anteils COX-2-positiver Zellen an der Gesamttumorzellzahl (Verteilungsscore)

Verteilungsscore	Anteil COX-2-positiver Zellen
Score 1	<5%
Score 2	5-25%
Score 3	26-50%
Score 4	51-75%
Score 5	>75%

3. Bewertung des prozentualen Anteils stark COX-2 exprimierender Zellen an der Gesamtentität COX-2-positiver Zellen mit Unterteilung in vier Grade (Intensitätsscore). Diese Einteilung wurde definitionsbedingt nur bei histologischen Proben vorgenommen, die eine COX-2 Expression aufwiesen (Verteilungsscore 2-5). Details zur Einteilung des Intensitätsscores sind in **Tabelle 3-3** dargestellt.

Tabelle 3-3: Semiquantitative Einteilung des prozentualen Anteils stark COX-2 exprimierender Tumorzellen an der Gesamttumorzellzahl COX-2-positiver Tumoren (Intensitätsscore)

Intensitätsscore	Anteil stark COX-2 exprimierender Zellen
Score 1	<5%
Score 2	5-25%
Score 3	26-50%
Score 4	>50%

4. Berechnung eines individuellen COX-2 Scores bei allen Proben mit einem Verteilungsscore >1, das heißt bei allen COX-2-positiven Tumoren, der das Produkt aus Verteilungs- und Intensitätsscore darstellt. Da der Verteilungsscore für diese Patienten Werte von 2 bis 5 und der Intensitätsscore Werte von 1 bis 4 annehmen konnte, umfasste die potentielle Spannbreite für den COX-2 Score Werte von 2 bis 20.

3.1.2 Klinische Anwendungsstudie

3.1.2.1 Tierversuchsanzeige

Gemäß §8a des deutschen Tierschutzgesetzes wurde die klinische Anwendungsstudie am 04. April 2007 dem Regierungspräsidium Darmstadt angezeigt (Referenznummer 2007012).

3.1.2.2 Patientengut, Einschluss- und Ausschlusskriterien

In diese prospektive Studie zur Anwendung einer hypofraktionierten ⁶⁰Cobalt-Bestrahlung in Kombination mit einer lebenslangen Meloxicam-Gabe wurden 25 Hunde mit histologisch nachgewiesenen intranasalen Tumoren eingeschlossen. Dabei wurden Patienten mit intranasalen malignen Lymphomen und benignen Tumoren ausgeschlossen. Ausschlusskriterien für die Studienteilnahme stellten zudem eine schwere Störung des Allgemeinbefindens oder eine längerfristige Anwendung (>8 Tage) eines NSAIDs in den letzten drei Monaten vor Therapiebeginn dar. Alle Studienteilnehmer entstammten dem Patientengut der Tierärztlichen Klinik für Kleintiere in Hofheim innerhalb des Zeitraums vom 01. April 2007 bis 01. September 2009.

3.1.2.3 Klinische Diagnostik

Anamnese und allgemeine klinische Untersuchung

Die initiale Untersuchung jedes Patienten umfasste zunächst eine ausführliche Anamnese, insbesondere zur Evaluierung der Dauer der Krankheitssymptomatik, der klinischen Ausprägung und der durchgeführten Vorbehandlungen. Die Dauer der Krankheitssymptomatik wurde in Wochen angegeben und als Zeitraum vom Auftreten der ersten klinischen Symptome bis zum Behandlungsbeginn innerhalb dieser Studie definiert. Das Allgemeinbefinden der Patienten wurde anhand der anamnestischen Befunde sowie des Eindrucks während der klinischen Untersuchung beurteilt. In die Studie wurden lediglich Patienten ohne oder mit geringgradiger Störung des Allgemeinbefindens aufgenommen.

Die Dokumentation der klinischen Symptomatik umfasste jegliche von der Norm abweichenden Befunde, die in einem potentiellen kausalen Zusammenhang mit der Erkrankung stehen könnten, wie beispielsweise Niesen, Nasenausfluss, nasaler Stridor, Würgen, Röcheln, Hecheln, Epiphora, Dolenz, Apathie und Schlafstörungen.

Auch neurologische Symptome, wie Orientierungs-schwierigkeiten, Stupor oder anderweitige Verhaltensänderungen wurden dokumentiert.

Als hochgradig ausgeprägt (+++) wurden die klinisch vorherrschenden Symptome beurteilt, die am häufigsten und stärksten im Vergleich zu allen Symptomen auftraten. Symptome, die weniger häufig und weniger stark ausgeprägt waren, wurden im Vergleich dazu als gering- (+) oder mittelgradig (++) eingestuft.

Bei Vorliegen von Nasenausfluss wurde dieser detaillierter beurteilt und sowohl in seiner Ausprägung, als auch in seinem Charakter beschrieben. Bezüglich der Ausprägung wurde das Vorliegen von uni- oder bilateralem Nasenausfluss unterschieden sowie eine Einteilung in gering-, mittel- und hochgradig vorgenommen. Diese Gradeinteilung erfolgte wie in **Tabelle 3-4** angegeben.

Tabelle 3-4: Einteilung des Nasenausflusses in vier Ausprägungsgrade

Ausprägungsgrad	Definition
Nicht vorhanden (-)	Kein Nasenausfluss
Geringgradig (+)	Nasenausfluss nicht täglich und/oder in geringer Menge
Mittelgradig (++)	Nasenausfluss täglich, aber nicht dauerhaft und/oder in moderater Menge
Hochgradig (+++)	Nasenausfluss täglich dauerhaft und/oder in großer Menge

Der Charakter des Nasenausflusses wurde in serös, mukös, purulent oder hämorrhagisch sowie deren Mischformen unterteilt. Nasenausfluss von gelblichem bis grünlichem mukösem Charakter wurde ohne Bestätigung durch eine bakteriologische Diagnostik als purulent beurteilt.

Der Anamneseerhebung folgte eine allgemeine klinische Untersuchung mit Evaluierung der Körperinnentemperatur, Auskultation von Herz und Lunge mit Bestimmung der Herz- und Atemfrequenz sowie Palpation des Abdomens und der peripheren Lymphknoten. Hierbei wurde insbesondere auf Veränderungen der mandibulären Lymphknoten im Hinblick auf eine mögliche Metastasierung geachtet. Zudem erfolgte eine Einschätzung bezüglich des Verhaltens, der Körperhaltung und des Ernährungszustandes des Hundes.

Die allgemeine Untersuchung diente der Beurteilung des allgemeinen Gesundheitszustandes sowie der präanästhetischen Einschätzung der Narkosefähigkeit der Patienten.

Anschließend erfolgte jeweils eine spezielle Untersuchung der Augen und des Nervensystems, da dies als relevant im Rahmen dieser Studie beurteilt wurde.

Augenuntersuchung

Zunächst erfolgte eine Beurteilung bezüglich des Vorliegens von Epiphora sowie der Möglichkeit zur Retropulsion beider Augäpfel. Nachfolgend wurde die Tränenproduktion, zur Dokumentation der Initialbefunde vor Beginn der Bestrahlungstherapie, beidseits mittels Schirmer Tränentest evaluiert (Normwert >15 mm/min) (MAGGS et al., 2008).

Neurologische Untersuchung der Kopfnerven

Um neurologische Defizite, wie sie durch Nasentumoren und auch eine Bestrahlungstherapie verursacht werden können, zu erkennen, erfolgte eine initiale Untersuchung des Pupillar-, Droh- und Kornealreflexes sowie der Hautsensibilität am Kopf. Die Reaktionen wurden als normo-, hypo- oder hyperreflexiv eingeteilt.

Abschließend erfolgte eine Blutabnahme aus der *Vena cephalica antebrachii* oder *Vena saphena lateralis* zur hämatologischen und klinisch-chemischen Untersuchung, für die etwa 10 ml Vollblut abgenommen wurden. Bei Überweisungspatienten, bei denen aktuelle Blutuntersuchungen (<1 Woche) durch den überweisenden Tierarzt vorlagen, wurden keine erneuten Blutuntersuchungen durchgeführt. Zudem erfolgte die Gewinnung einer Urinprobe in Form von Sammelurin.

Laboruntersuchung

Hämatologie und Klinische Chemie

Eine hämatologische Untersuchung erfolgte entweder kliniksintern mittels scil Vet abc⁵ beziehungsweise IDEXX LaserCyte^{®6} oder extern in einem veterinärmedizinischen Auftragslabor (Biocontrol Ingelheim⁷). Folgende Parameter wurden als minimale Datenbasis erhoben:

- Leukozyten mit Differentialblutbild, Erythrozyten, Hämatokrit und Thrombozyten

Bei kliniksinterner Messung der klinischen Chemie mittels VetTest^{®8008} wurden mindestens folgende Parameter bestimmt:

- Alanin Aminotransferase, Alkalische Phosphatase, Kreatinin, Harnstoff, Totalprotein, Albumin und Glukose

In einzelnen Fällen erfolgte eine Untersuchung durch ein externes veterinärmedizinisches Auftragslabor (Biocontrol Ingelheim⁷), bei der zusätzlich Elektrolyte und weitere Organparameter bestimmt wurden. In Einzelfällen lagen bereits aktuelle Blutuntersuchungen durch die überweisenden Tierärzte vor.

Urinuntersuchung

Die Untersuchung des Urins erfolgte im klinikseigenen Labor und umfasste eine Untersuchung mittels Refraktometer (Spezifisches Gewicht, Gesamtprotein) sowie Combur[®]-Test⁸ (pH-Wert, Protein, Glukose, Ketonkörper, Bilirubin und Erythrozyten).

⁵ scil animal care company GmbH, Viernheim, Deutschland

⁶ IDEXX GmbH, Ludwigsburg, Deutschland

⁷ Ingelheim am Rhein, Deutschland

⁸ Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland

3.1.2.4 Anästhesie

Während der computertomographischen Untersuchung, der Bestrahlung sowie der Biopsieentnahme erfolgte eine Anästhesie der Patienten zur Gewährleistung einer exakten Lagerung beziehungsweise schonenden Probennahme. Dazu wurde folgendes Narkoseprotokoll angewendet:

- Narkoseeinleitung mittels Injektionsnarkose durch eine Kombination aus Diazepam (0,5-1,0 mg/kg KG i.v.)⁹ und Propofol (2-4 mg/kg KG i.v.)¹⁰ über einen peripheren Venenzugang in die *Vena cephalica antebrachii* oder *Vena saphena lateralis*
- Orotracheale Intubation unter optischer Kontrolle
- Narkoseerhaltung mittels Inhalationsnarkose durch ein Isofluran-Sauerstoff-Gemisch; Isofluran: Einleitung 3-4 Volumen%, Erhaltung 0,6-1,5 Volumen%¹¹; Sauerstoff: 0,4-0,6 l/min
- Narkoseüberwachung mittels Pulsoxymetrie

3.1.2.5 Technische Geräte

Computertomograph

Mit Ausnahme von 13 Patienten, die bereits mit computertomographischen (n=11) oder magnetresonanztomographischen (n=2) Befunden an die Tierärztliche Klinik für Kleintiere in Hofheim überwiesen wurden sowie einem Patienten, der nach Bestrahlungsabschluss aus logistischen Gründen zweimalig durch die Überweisungsklinik computertomographisch kontrolliert wurde, fanden alle bildgebenden Untersuchungen in der Tierärztlichen Klinik für Kleintiere in Hofheim statt. Dazu wurde bis Januar 2008 ein 4-zeiliges Toshiba CT (Asteion TSX-021A) verwendet. Seit Januar 2008 befand sich ein 16-zeiliges Toshiba CT (Activion™ 16) in Anwendung. Über die extern verwendeten technischen Geräte lagen keine Informationen vor.

⁹ Diazepam 10mg-Rotexmedia, 10mg/2ml, Rotexmedica, Trittau, Deutschland

¹⁰ Narcofol®, 10mg/ml, cp-Pharma, Burgdorf, Deutschland

¹¹ Isoba®, Essex Tierarzney, München, Deutschland

⁶⁰Cobalt-Teletherapieanlage

Die Strahlentherapie der Patienten wurde mittels einer ⁶⁰Cobalt-Teletherapieanlage von Philips durchgeführt. Dabei handelt es sich um eine Megavoltage-Strahleneinheit mit einer Energieleistung von 1,2 MeV.

3.1.2.6 Bildgebende Diagnostik und Stadieneinteilung

Computertomographische Untersuchung von Kopf und Thorax

Da sich das Patientengut dieser Studie überwiegend aus Überweisungspatienten zusammensetzte, lagen, wie im vorigen Abschnitt erwähnt, teilweise Ergebnisse bildgebender Diagnostika (CT oder MRT) aus anderen Institutionen vor und wurden zur Bewertung der Ausgangsbefunde (elf CT-Befunde, zwei MRT-Befunde) oder Kontrollbefunde (zwei CT-Befunde) herangezogen.

Alle in der Tierärztlichen Klinik für Kleintiere in Hofheim durchgeführten computertomographischen Untersuchungen des Kopfes umfassten Transversal-Scans (Spannung 120 kV, Stromstärke 50 mA) mit einer Schichtdicke von 1-2 mm. Dabei wurde jeweils eine Untersuchung vor und nach Applikation eines nicht-ionischen Röntgenkontrastmittels (2 mg/kg KG i.v.^{12,13}) durchgeführt. Die Auswertung erfolgte im Weichteil- und Knochenfenster.

Die computertomographische Untersuchung des Thorax erfolgte mittels eines Helical-Scans bei vollständiger Inspiration unter Atemhemmung (Spannung 120 kV, Stromstärke 30-50 mA) mit einer Schichtdicke von 1-2 mm nach Anwendung eines nicht-ionischen Röntgenkontrastmittels (2 mg/kg KG i.v.^{12,13}). Die Auswertung umfasste eine Beurteilung im Lungen- und Weichteilfenster. Bei Patienten, deren CT-Untersuchung des Kopfes initial in externen Institutionen durchgeführt wurde oder bei denen die Therapieentscheidung noch nicht gefallen war, erfolgte die initiale Thorax-CT zu Bestrahlungsbeginn. Nach Einführung des 16-zeiligen Computertomographen wurden auch die Kontrolluntersuchungen der Lunge computertomographisch durchgeführt, um eine detailliertere Aussagekraft im Vergleich zur röntgenologischen Darstellung zu erzielen. Zuvor erfolgten die Nachkontrollen überwiegend röntgenologisch in Form zweier latero-lateraler Aufnahmen mittels eines digitalen Röntgengerätes (Geräteeinstellungen abhängig von der Größe des Hundes).

¹² Optiray® 320 Injektionslösung, Tyco Healthcare/Mallinckrodt, USA

¹³ Xenetix® 350 Lösung, Guerbet GmbH, Frankreich

Tumorlokalisation und Stadieneinteilung

Bezüglich der Tumorlokalisation wurde anhand der bildgebenden und damit überwiegend computertomographischen Befunde zwischen einer uni- oder bilateralen Ausdehnung unterschieden sowie zwischen Tumoren mit kranialer (bis zum vierten Prämolaren des Oberkiefers [PM4]), kaudaler (ab PM4) oder kraniokaudaler Lokalisation in der Nasenhöhle. Zudem wurde eine Beteiligung der Stirnhöhle(n) und extranasaler Strukturen dokumentiert.

Anschließend erfolgte die Stadieneinteilung der Tumoren, die sich an der modifizierten WHO-Einteilung nach ADAMS et al. (2009) orientierte und in Form eines TNM-Schemas, wie in **Tabelle 3-5** dargestellt, angegeben wurde.

Tabelle 3-5: Modifizierte WHO-Stadieneinteilung nach ADAMS et al. (2009)

Stadium	Definition
T1	unilateraler sinonasaler Tumor ohne Knochendestruktion außer Turbinalia
T2	jegliche Knochendestruktion ohne Tumorextension in Orbita, Subkutis, Submukosa oder Nasopharynx
T3	Tumorextension in Orbita, Subkutis, Submukosa oder Nasopharynx
T4	Destruktion der kribriformen Platte
N0	keine regionale Lymphknotenmetastase
N1	regionale Lymphknotenmetastase
M0	keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

T = Tumorstadium; N = Lymphknotenmetastase; M = Fernmetastase

3.1.2.7 Tumorhistologie

Biopsieentnahme

Für die histologische und immunhistochemische Untersuchung der Nasentumoren erfolgte, nach detaillierter Lokalisation der tumorverdächtigen Areale mittels bildgebender Diagnostik, meist eine normograde Biopsie mittels Alligator-Biopsiezange oder Biopsienadel¹⁴. Bei Vorliegen von Osteolysen erfolgte die Biopsieentnahme gegebenenfalls transpalatinal oder über den Nasenrücken mittels Biopsienadel¹⁴ sowie bei geringen Tumervolumina oder weit kaudal lokalisierten Tumoren endoskopisch unter visueller Kontrolle. Eine histologische Diagnose lag bei einigen Patienten bereits bei Überweisung vor (n=7), wobei die Biopsie in zwei Fällen operativ erfolgt war.

Histologische und immunhistochemische Untersuchung

Die histologische Untersuchung der formalinfixierten Biopsieproben erfolgte in der Fachpraxis für Tierpathologie in München durch zwei Fachtierärzte für Pathologie (Dr. W. von Bomhard, Dr. S. Pfleghaar) nach den in Kapitel 3.1.1.1 genannten Kriterien. Bei fünf Patienten lagen histologische Befunde aus anderen tierpathologischen Fachinstitutionen vor, die durch die Pathologen der Fachpraxis für Tierpathologie in München bestätigt wurden.

Nach Rekrutierung aller 25 Patientenproben wurde eine immunhistochemische Untersuchung analog des in Kapitel 3.1.1.2 beschriebenen Färbeverfahrens zur Beurteilung der tumoreigenen COX-2 Expression initiiert. Die Auswertung erfolgte durch Dr. W. von Bomhard (Diplomate ECVF) der Fachpraxis für Tierpathologie in München. Es wurde ein Auswertungsschema analog zur Immunhistochemie Studie angewendet (siehe Kapitel 3.1.1.3).

¹⁴ SuperCore™ Biopsy Instrument, 14G 2 mmx15 cm, Walter Veterinär-Instrumente e.K., D-Baruth

3.1.2.8 Therapieplan

Adjuvante Therapie mittels Meloxicam

Nach Abschluss der initialen Diagnostik und Stadieneinteilung der Nasentumoren erfolgte der Einsatz des NSAIDs Meloxicam^{15,16} in der empfohlenen gewichtsabhängigen Dosierung (initial 0,2 mg/kg KG subkutan, anschließend 0,1 mg/kg KG einmal täglich per os). Im Rahmen dieser Studie wurde eine 3-wöchige Monotherapie mit Meloxicam vor Beginn der Bestrahlungstherapie geplant, wobei dieser Zeitrahmen bei Patienten mit inakzeptablen klinischen Symptomen, wie starker Epistaxis oder einem progressiv schlechter werdenden Allgemeinbefinden sowie auf dringlichen Besitzerwunsch verkürzt werden konnte. Dies wurde von einem Großteil der Patientenbesitzer proaktiv gefordert (n=17). Bei Patient Nr. 20 wurde die Meloxicam-Gabe aufgrund eines Missverständnisses nicht durch den Haustierarzt initiiert, sondern wurde verzögert zum Zeitpunkt der ersten Bestrahlung begonnen, so dass die Wirkung der initialen Meloxicam-Monotherapie nur bei 24 Patienten beurteilt werden konnte.

Hypofraktionierte Strahlentherapie

Abhängig von der klinischen Symptomentwicklung der Patienten und vorliegender Besitzerwünsche wurde nach einer 6- bis 26-tägigen (median 14,5 Tage) Monotherapie mit Meloxicam die hypofraktionierte, palliative Megavoltage-Bestrahlung mittels ⁶⁰Cobalt-Teletherapieanlage begonnen. Das Bestrahlungsprotokoll umfasste drei Einzelfractionen, die in Abständen von jeweils 7-10 Tagen mit einer Fraktionsdosis von jeweils 8 Gy appliziert wurden. Somit wurde eine Gesamtbestrahlungsdosis von 24 Gy angewendet.

Lokalisation, Größe und Anzahl der Bestrahlungsfelder wurden anhand des jeweiligen Tumorausmaßes in der computertomographischen Untersuchung zum Zeitpunkt der ersten Bestrahlung manuell berechnet. Als Tumorausmaß wurde jegliches pathologisches Gewebe definiert, da eine Unterscheidung zwischen Tumorgewebe, Nekrose und Entzündung sowie Sekretretention nicht zweifelsfrei

¹⁵ Metacam® 1,5 mg/ml Suspension zum Eingeben für Hunde, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim am Rhein, Deutschland

¹⁶ Metacam® 5 mg/ml Injektionslösung, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim am Rhein, Deutschland

möglich war. Bei Festlegung der Bestrahlungsfelder wurde, soweit möglich, ein Sicherheitsabstand von 0,5-2,0 cm um das sichtbare Tumorausmaß involviert. Die Bestrahlung erfolgte je nach Ausmaß und Lokalisation des Tumors mit zwei Bestrahlungsfeldern (dorsal und einseitig lateral) oder mit drei Bestrahlungsfeldern (dorsal, beidseitig lateral). Strukturen, die im Bestrahlungsfeld von der Strahlenwirkung ausgenommen werden konnten (insbesondere die strahlensensiblen okularen Strukturen und der Nasenspiegel), wurden mittels Bleiblöcken geschont. Dies war jedoch nur möglich, wenn kein pathologisches Gewebe in unmittelbarer Nähe vorlag. Lagen Narbenbereiche oder eine Involvierung der Subkutis bzw. Kutis vor, wurde ein 0,5 cm dicker, gewebeäquivalenter „Bolus“ oberflächlich aufgelegt, um eine Strahlenwirkung bereits in diesen oberflächlichen Arealen zu erzielen (Vermeidung des „skin-sparing“ Effekts, siehe Kapitel 2.3.2.2). Die lateralen Bestrahlungsfelder wurden bei größeren Hunden zur Optimierung der Dosisverteilung mit Bleikeilen, sogenannten „Wedges“, mit einem Winkel von 30° oder 45° kombiniert. Bei Einsatz dieser „Wedges“ wurde von technischer Seite eine Schonung empfindlicher Strukturen durch Bleiblöcke in den lateralen Bestrahlungsfeldern verhindert. Zudem war die Schonung okularer Strukturen von lateral meist durch die medial der Augen gelegene Tumormasse nicht indiziert. Bei weit kaudal gelegenen Tumoren mussten zudem Anteile des Großhirns, insbesondere der Bulbus olfactorius, in das Bestrahlungsfeld einbezogen werden. Zur exakten und reproduzierbaren Positionierung während den Folgebestrahlungen wurden die Feldgrenzen ausrasiert und farbig markiert.

3.1.2.9 Nachkontrollen

Die Patienten wurden hinsichtlich der Entwicklung der klinischen Symptomatik und des Tumolvolumens zu Beginn und zum Abschluss der Bestrahlung nachkontrolliert. Zudem wurden nachfolgend Kontrollen in 3-monatigen Abständen empfohlen.

Die Kriterien der Nachkontrollen richteten sich überwiegend nach den in Kapitel 3.1.2.3 genannten Kriterien, die bereits bei der initialen Untersuchung angewendet wurden. Eine erneute Labordiagnostik erfolgte nicht. Die Nachkontrollen umfassten jeweils klinische und computertomographische Untersuchungen sowie eine erneute Stadieneinteilung der Tumoren. Die Inhalte der Nachkontrollen beinhalteten im Detail:

- **Anamneseerhebung** (siehe Kapitel 3.1.2.3)
- **Allgemeine klinische Untersuchung** (siehe Kapitel 3.1.2.3)
- **Augenuntersuchung** (siehe Kapitel 3.1.2.3)

Bei pathologischen Befunden wurde bei Bedarf eine Fluoresceinuntersuchung (Befund: negativ/positiv) oder Tonometrie (Referenzbereich etwa 10-20 mmHg, max. 20% Variation im Seitenvergleich) (MAGGS et al., 2008) durchgeführt.

- **Neurologische Untersuchung der Kopfnerven** (siehe Kapitel 3.1.2.3)
- **Computertomographische Untersuchung des Kopfes** (siehe Kapitel 3.1.2.6)
- **Röntgenologische oder computertomographische Untersuchung des Thorax** (siehe Kapitel 3.1.2.6)

Bewertung der klinischen Symptomatik

Da eine hypofraktionierte, palliative Bestrahlung vorrangig auf eine Verbesserung der klinischen Symptomatik zielt, wurden die Änderungen der klinischen Symptomatik sowie Änderungen des Allgemeinbefindens bei den Nachkontrollen besonders hinterfragt und mit den vorhergehenden Befunden verglichen. Dazu dienten die Informationen der Patientenbesitzer (telefonisch oder bei den Kontrolluntersuchungen) sowie die Befunde der klinischen Untersuchung.

Der Einfluss auf die Ausprägung und den Charakter des Nasenausflusses wurde als wichtigster Indikator gewertet. Dabei wurden folgende Punkte evaluiert (siehe Kapitel 3.1.2.3):

- 1) Ausprägungsgrad (gering-, mittel- oder hochgradig)
 - Veränderung des Grades
- 2) Charakter (serös, mukös, purulent, hämorrhagisch bzw. Mischformen)
 - Veränderung des Charakters

Die Bewertung der Therapiewirkung erfolgte nach folgendem Schema:

Tabelle 3-6: Beurteilungskriterien für die Therapiewirkung in Bezug auf die klinische Symptomatik

Wirkung	Definition
Verschlechterung (-)	Verschlechterung des Ausprägungsgrades der Symptomatik
Stabil	Stabiler Ausprägungsgrad der Symptomatik
Geringe Verbesserung (+)	Geringe Verbesserung der Symptomatik, z.B. geringerer Ausprägungsgrad oder Verbesserung des Nasenausfluss-Charakters
Starke Verbesserung (++)	Starke Verbesserung der Symptomatik, z.B. deutlich geringerer Ausprägungsgrad oder deutliche Verbesserung des Nasenausfluss-Charakters

Beurteilung der Bestrahlungsnebenwirkungen

Eine detaillierte Beurteilung der Bestrahlungsnebenwirkungen erfolgte in dieser Studie nicht, da die Kontrollen zeitlich in weiträumigen Abständen erfolgten und zu stark differierten sowie teilweise nicht in Anspruch genommen wurden. Informationen zu akuten Nebenwirkungen (<90 Tagen) lagen oftmals nur in Form von telefonischen Aussagen seitens der Tierhalter oder behandelnden Haustierärzte vor, so dass keine vergleichende qualitative Beurteilung möglich war. Eine kliniksinterne Untersuchung 2-4 Wochen nach Bestrahlung erfolgte lediglich bei drei Patienten.

Routinemäßig wurden im Rahmen der Nachkontrollen eine adspektorische Kontrolle des Bestrahlungsfeldes mit detaillierter Betrachtung der Augen, ein Schirmer Tränentest und eine neurologische Untersuchung der Kopfnerven sowie der Hautsensibilität vorgenommen.

Eine Reduktion der Tränenproduktion wurde graduell unterteilt in

- geringgradig (10 bis 14 mm/min)
- mittelgradig (5 bis <10 mm/min)
- hochgradig (<5 mm/min)

Die Nebenwirkungen wurden nach Organsystemen in okuläre, dermale und neurologische Nebenwirkungen unterteilt.

Auswertung der bildgebenden Befunde

Die Bewertung der Therapiewirkung auf den Tumor erfolgte in Form einer software-gestützten Berechnung des Tumolvolumens nach manueller Markierung der Tumorgrenzen in den entsprechenden Schichtaufnahmen der Computertomographie. Dazu wurde die Visualisierungssoftware Amira[®] 5.3¹⁷ genutzt, in die die Daten im DICOM-Format übertragen wurden.

Nach manueller Markierung der Tumorgrenzen in der zweidimensionalen Darstellung der einzelnen Schichtaufnahmen (meist 1-2 mm) wurde ein dreidimensionales Tumormodell berechnet. Aufgrund der limitierten Unterscheidungsmöglichkeiten zwischen Tumorgewebe und sekundär verändertem Gewebe (beispielsweise Entzündung und Nekrose) wurde jegliches in der Bildgebung als pathologisch beurteiltes Gewebe innerhalb der Nasenhöhle sowie bei Tumorextension auch der Nasenhöhlenumgebung, in die Berechnung einbezogen. Dies umfasste auch einen Übergang in die Stirnhöhlen, da eine verlässliche Unterscheidung zwischen Tumorgewebe und Sekretretention trotz Kontrastmittelgabe nicht immer möglich war. Drei initiale bildgebende Untersuchungen aus externen Einrichtungen (ein CT und zwei MRTs) konnten aufgrund des vorliegenden Dateiformats oder einer unzureichenden Bildauflösung nicht mit der oben genannten Visualisierungssoftware ausgewertet werden und wurden daher mittels zweidimensionaler Kriterien (SCHWIETZER, 2008) bewertet. Dabei wurde zum einen die Tumorausdehnung von rostral nach kaudal in Zentimetern gemessen sowie eine Haupttumormasse bestimmt, deren maximale Höhe und Breite in Zentimetern beurteilt wurde. Die Haupttumormasse stellte dabei der Bereich der größten Tumorausdehnung innerhalb und außerhalb der Nasenhöhle dar.

Zur Beurteilung der Therapiewirkung auf das Tumolvolumen wurden im Allgemeinen Kriterien zum dreidimensionalen Größenvergleich verwendet, die bisher vereinzelt in tiermedizinischen Fachartikeln publiziert und bereits mit den bisherigen ein- (Response Evaluation Criteria in Solid Tumours [RECIST]) oder zweidimensionalen (WHO) Kriterien zur Einschätzung der Therapiewirkung verglichen wurden (STANCLIFT und GILSON, 2008; WILEY et al., 2010). Ein volumetrischer Vergleich der Therapiewirkung wurde gewählt, da Nasentumoren durch ihr nicht-sphärisches Wachstumsmuster nur eingeschränkt mit ein- oder zweidimensionalen Methoden

¹⁷ Visage Imaging[®] GmbH, D-12163 Berlin, Germany

vergleichbar sind. Aufgrund der zu Beginn zeitlich sehr eng gefassten Nachkontrollen in Abständen von etwa 2-3 Wochen, wurden die Kriterien für eine Remission oder Progression der Tumoren entsprechend angepasst.

Die Einteilung der Therapiewirkung wurde wie folgt definiert:

- 1) **progressive Erkrankung** >10% Zunahme des Tumorvolumens
- 2) **stabile Erkrankung** ≤10% Zunahme bis ≤10% Rückgang
des Tumorvolumens
- 3) **partielle Remission**: Einteilung in drei Grade
 - a) geringgradig 11-30% Rückgang des Tumorvolumens
 - b) mittelgradig 31-50% Rückgang des Tumorvolumens
 - c) hochgradig >50% bis <100% Rückgang des Tumorvolumens
- 4) **komplette Remission** kein messbares Tumorvolumen

Es erfolgte zunächst ein Vergleich der initialen Tumorvolumina mit den Volumina nach Meloxicam-Monotherapie sowie nachfolgend der Tumorvolumina vor der Bestrahlungstherapie mit den Volumina nach Bestrahlungsabschluss.

Zur Stadieneinteilung der Tumoren (siehe Kapitel 3.1.2.6) erfolgte zusätzlich die Evaluierung der Invasivität der intranasalen Zubildung in die Umgebungsstrukturen (Subkutis, Submukosa, Orbita, Nasopharynx, kribiforme Platte).

Eine mögliche Metastasierung der Nasentumoren wurde durch eine Beurteilung der regionalen Lymphknoten (Lnn. mandibulares und retropharyngealis) im Seitenvergleich sowie des Thorax hinsichtlich vergrößerter Lymphknoten, nodulärer Herde im Lungenparenchym oder anderweitiger Auffälligkeiten überprüft.

3.1.2.10 Überlebenszeit und progressionsfreie Zeit

Als individueller Endpunkt der Studie wurde der Todeszeitpunkt der Patienten bzw. das Ende der klinischen Anwendungsstudie definiert. Jeder Patient wurde bis zu seinem Tod oder mindestens 365 Tage nach Therapiebeginn beobachtet, wodurch der 01. September 2010 als Studienendpunkt festgelegt wurde (365 Tage nach Therapiebeginn von Patient Nr. 24).

Die Todesursache wurde, gegebenenfalls durch Rücksprache mit dem Haustierarzt oder Tierhalter, evaluiert und hinsichtlich eines Zusammenhangs mit der Tumorerkrankung oder Therapie bewertet. Eine Sektion der Tiere zur Feststellung der Todesursache erfolgte nicht.

Die Überlebenszeit wurde als Zeitraum zwischen Therapiebeginn (Beginn der Meloxicam-Gabe) und dem Todeszeitpunkt definiert und in Tagen angegeben. Die progressionsfreie Zeit umfasste den Zeitraum zwischen Therapiebeginn (Beginn der Meloxicam-Gabe) und dem erneuten Auftreten oder der Verschlechterung der nasalen Symptomatik. Dieses Intervall wurde ebenfalls in Tagen angegeben.

Patienten wurden für die Berechnung der progressionsfreien Zeit oder Überlebenszeit zensiert, wenn sie zum Studienendpunkt keine Progression der Symptomatik zeigten oder nicht verstorben waren.

3.1.2.11 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung aller erhobenen Daten erfolgte auf den Rechnern im lokalen Rechnernetzwerk der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung des Fachbereichs Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen. Die statistischen Auswertungen wurden mithilfe des Statistikprogrammpakets BMDP/Dynamic Statistical Software, Inc.¹⁸, Release 8.1 (DIXON, 1993), durchgeführt.

Immunhistochemische Studie

In die statistische Auswertung wurden alle immunhistochemisch gefärbten und ausgewerteten Präparate mit Ausnahme der fünf Ästhesioneuroblastome involviert, so dass insgesamt 109 Proben in die Auswertung einbezogen wurden. Die Ästhesioneuroblastome wurden aufgrund der geringen Fallzahl ausgeschlossen.

¹⁸ Statistical Solutions Ltd, Cork, Ireland

Der Zusammenhang des qualitativen Merkmals Tumorart und der semiquantitativen Merkmale COX-2 Verteilungs- und Intensitätsscore wurde in Form **Zweidimensionaler Häufigkeitstabellen** (Kontingenztafeln) dargestellt. Nicht statistisch bewertet wurden die Ergebnisse des COX-2 Scores, da dieser das Produkt aus Verteilungs- und Intensitätsscore darstellt.

Die ordinalskalierten, semiquantitativen COX-2 Verteilungs- und Intensitätsscores wurden anschließend mittels **Kruskal-WallisTest**, auch H-Test genannt, vergleichend zwischen den verschiedenen Tumorarten untersucht. Statistisch signifikante Resultate aus dem Kruskal-Wallis-Test wurden nachfolgend durch paarweise Vergleiche der Gruppen **nach Nemenyi** ergänzt.

Resultate mit p -Werten $\leq 0,05$ wurden als statistisch signifikant eingestuft, da ein Signifikanzniveau von $\alpha=0,05$ als Bewertungsgrundlage festgelegt wurde. Soweit möglich, wurde der exakte p -Wert angegeben.

Klinische Anwendungsstudie

Als statistische Zielgrößen (abhängige Variable) wurden die progressionsfreie Zeit und die Überlebenszeit definiert. Da zum Studienendpunkt nicht alle Patienten eine Tumorprogression zeigten oder verstorben waren, waren nicht alle Werte dieser beiden Zielgrößen bekannt, so dass es sich hierbei um zensierte Daten handelte. Diese wurden daher mittels **Kaplan-Meier-Schätzer** analysiert und deskriptiv dargestellt. Eine Untersuchung fand zum einen für die gesamte Patientengruppe statt und zum anderen differenziert nach Tumorstadium, Tumorart und Tumorrückgang nach Meloxicam-Monotherapie.

Da die Beobachtungszeit für beide Zielgrößen durch den Studienendpunkt zensiert wurde, bestand generell die Einschränkung, dass die zuletzt rekrutierten Patienten eine geringere Wahrscheinlichkeit für das Eintreten der jeweiligen Zielgröße hatten. Dies wurde versucht weitestgehend zu vermeiden, indem jeder Patient über mindestens 365 Tage nach Therapiebeginn beobachtet wurde. Dieser Zeitraum lag über der zu erwartenden medianen Eintrittszeit für die beiden Zielgrößen.

Ein statistischer Einfluss mehrerer Variablen auf die progressionsfreie Zeit und Überlebenszeit wurde mittels **Cox-Regression** untersucht, wobei folgende Variablen involviert wurden:

- Alter (quantitatives Merkmal)
- Tumorart (qualitatives Merkmal)

Zur Beurteilung der Tumorart wurde eine grobe Einteilung in Karzinome und Sarkome sowie eine feine Einteilung in Adenokarzinome, Sonstige Karzinome, Chondrosarkome und Sonstige Sarkome vorgenommen (siehe **Tabelle 3-7**), da sich erstere in einer Studie (ADAMS et al., 2009) als statistisch signifikant hinsichtlich der Überlebenszeit erwiesen hatte. Der Einzelfall des Ästhesioneuroblastoms wurde nicht in die Auswertung involviert.

Tabelle 3-7: Grobe und feine Unterteilung der Tumorarten für die statistische Auswertung

Grobe Unterteilung der Tumorarten	Feine Unterteilung der Tumorarten	Zuordnung der vorliegenden Tumorarten
Karzinom	Adenokarzinom	Wenig- und hochdifferenzierte Adenokarzinome
	Sonstige Karzinome	Plattenepithelkarzinome Übergangsepithelkarzinome Undifferenzierte Karzinome
Sarkom	Chondrosarkom	Wenig- und hochdifferenzierte Chondrosarkome
	Sonstige Sarkome	Osteosarkome Undifferenzierte Sarkome

- Initiales Tumorstadium (ordinalskaliertes Merkmal)
- COX-2 Expression: Verteilungs-, Intensitäts- und COX-2 Score (ordinalskalierte Merkmale)

Zur explorativen Datenanalyse oben genannter Einflussfaktoren auf die progressionsfreie Zeit und Überlebenszeit erfolgten parallel vier unterschiedliche Analysen mit folgenden Variablen:

- Tumorart grob; Tumorstadium; Verteilungs- und Intensitätsscore; Alter
- Tumorart fein; Tumorstadium; Verteilungs- und Intensitätsscore; Alter
- Tumorart grob; Tumorstadium; COX-2 Score; Alter
- Tumorart fein; Tumorstadium; COX-2 Score; Alter

Die genannten Variablen konnten jeweils zwanzig Patienten berücksichtigen, da vier Patienten aufgrund eines fehlenden Intensitäts- und COX-2 Scores (COX-2-negative

Tumoren) und ein Patient aufgrund der Tumorart (Ästhesioneuroblastom) ausgeschlossen wurden.

Zur Verbesserung der statistischen Teststärke erfolgte anschließend eine zweite Auswertung mittels **Cox-Regression** unter Ausschluss der COX-2 Parameter, so dass eine Gruppengröße von jeweils 24 Patienten vorlag. Die eingesetzten Variablen umfassten daher:

- Tumorart grob; Tumorstadium; Alter
- Tumorart fein; Tumorstadium; Alter

Die Ergebnisse wurden wie folgt angegeben:

- p-Wert des Testergebnisses
- Variable mit signifikanten u-Werten (=Testgröße, bei $\alpha=0,05$ liegt angenähert ab einem u-Wert >2 ein statistisch signifikanter Einfluss vor): Koeffizient; angenähertes 95% Vertrauensintervall; u-Wert mit entsprechendem p-Wert

Dabei zeigt ein positiver Koeffizient an, dass mit zunehmendem Variablenwert das Risiko für das Eintreten des Zielereignisses steigt.

Eine Zusammenhangsanalyse der ordinalskalierten zweistufigen Zielgröße Tumorremission mit dem qualitativen Merkmal Tumorart (grob und fein) wurde mittels **exaktem Test von Fisher** durchgeführt, während die Analyse mit den ordinalskalierten Variablen Alter (≤ 5 ; 6-10; >10 Jahre) und den COX-2 Scores aufgrund der geringen Stichprobengröße mittels **exakter logistischer Regression** berechnet wurde. Bei letzterem Test weist ein positiver Modell-Koeffizient darauf hin, dass bei einer Zunahme des jeweiligen Variablenwertes auch eine Chancenzunahme für das Eintreten der Zielgröße vorliegt.

Eine Zusammenhangsanalyse bezüglich der ordinalskalierten COX-2 Variablen (Verteilungs-, Intensitäts- und COX-2 Score) mit der qualitativen Variable Tumorart wurde mit dem **Kruskal-Wallis-Test** (Tumorart fein) oder **Wilcoxon-Mann-Whitney-Test** (Tumorart grob) durchgeführt.

Des Weiteren wurde eine Korrelation zwischen der COX-2 Expression (Verteilungs-, Intensitäts- und COX-2 Score) und dem Tumorstadium, zwei ordinalskalierten

Variablen, mithilfe des **Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman** beurteilt. Ein positiver Zusammenhang zwischen beiden Variablen äußert sich durch einen positiven r_s -Wert (maximal +1) und ein negativer Zusammenhang durch einen negativen r_s -Wert (maximal -1).

Eine statistische Signifikanz wurde als $p \leq 0,05$ definiert, da dieser Bewertung ein Signifikanzniveau $\alpha=0,05$ zugrunde gelegt wurde. Der p-Wert wurde, soweit möglich, exakt angegeben.

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Immunhistochemische Studie

In die Beurteilung einer immunhistochemisch evaluierten intratumoralen COX-2 Expression konnten alle 114 ausgewählten histologischen Präparate von sechs verschiedenen kaninen intranasalen Tumorarten (siehe Kapitel 3.1.1.1) einbezogen werden.

Von diesen 114 involvierten Präparaten wiesen 76% (n=87) eine COX-2 Expression auf, wovon 21% (n=24) lediglich schwach färbende und 55% (n=63) sowohl schwach als auch stark färbende Areale beinhalteten.

Beispiele für die drei Grade der COX-2 Färbeintensität sind in **Abbildung 3-1** (fehlende COX-2 Expression), **Abbildung 3-2** (schwache COX-2 Expression) und **Abbildung 3-3** (Kombination aus starker und schwacher COX-2 Expression) anhand von Photographien lichtmikroskopischer Befunde dargestellt.

Abbildung 3-1: Lichtmikroskopische Darstellung eines Chondrosarkoms mit fehlender COX-2 Expression nach immunhistochemischer Färbung (10fache Vergrößerung), HE-Färbung

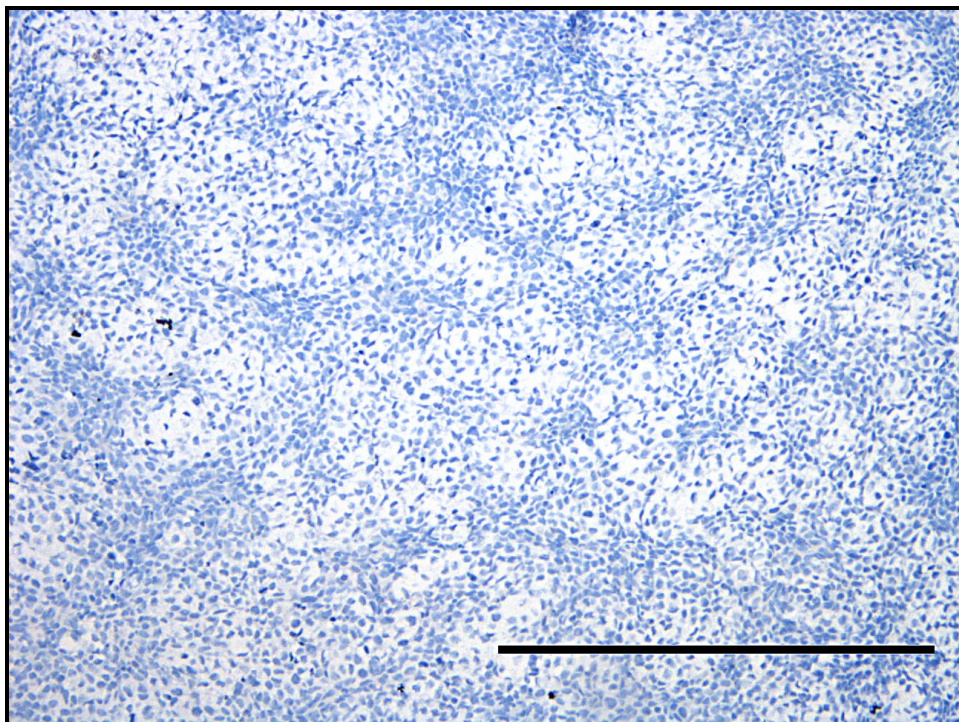


Abbildung 3-2: Lichtmikroskopische Darstellung eines Übergangsepithelkarzinoms mit schwacher perinukleärer und zytoplasmatischer COX-2 Expression nach immunhistochemischer Färbung (10fache Vergrößerung), HE-Färbung

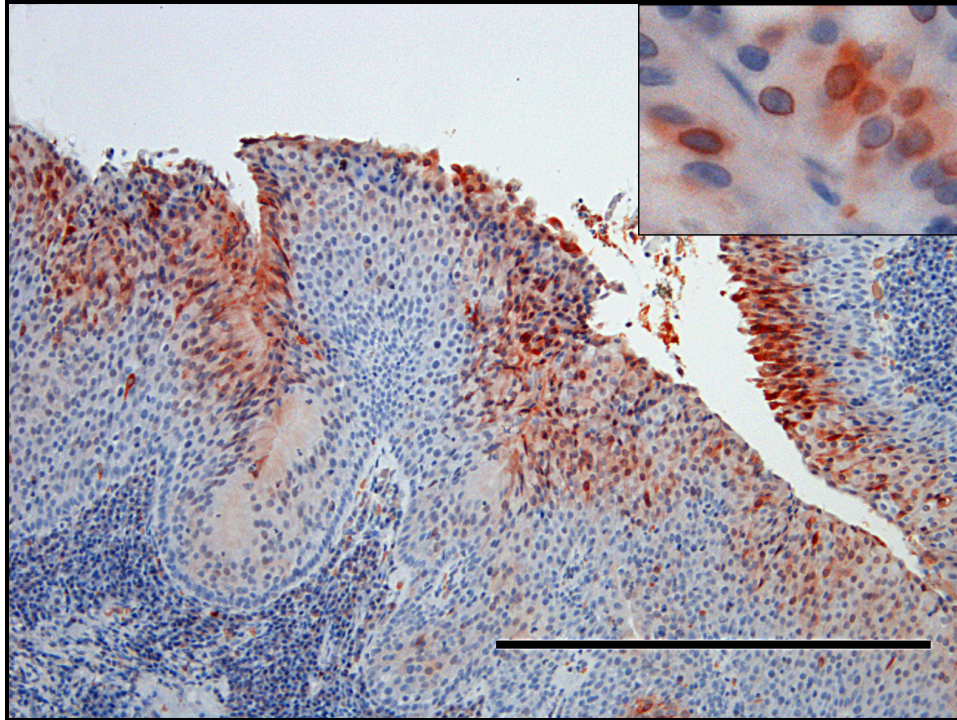
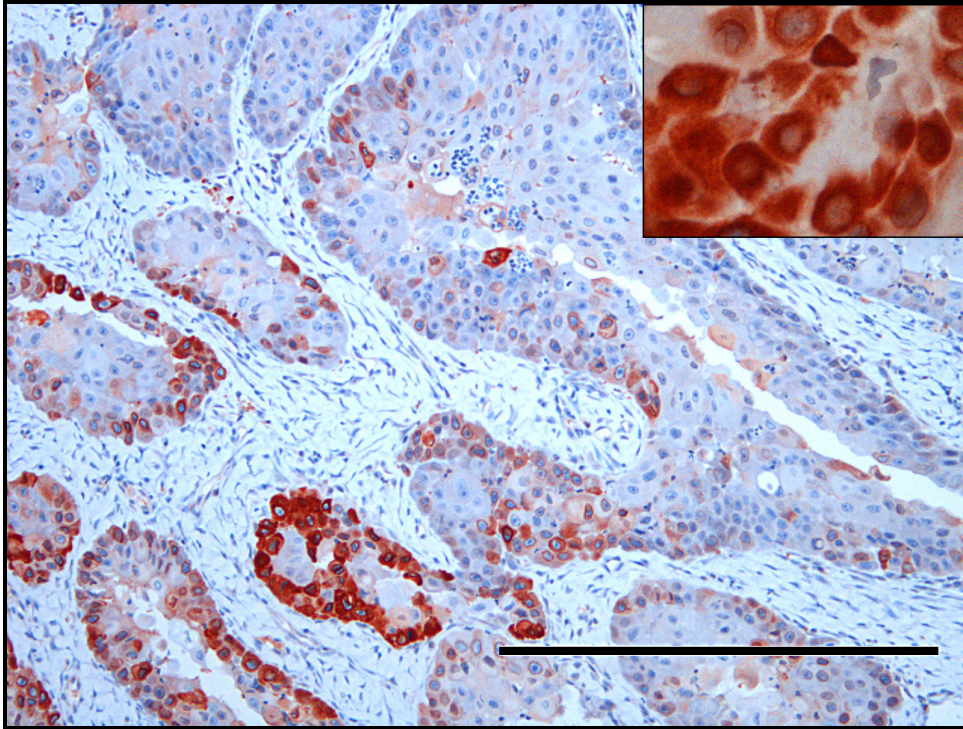


Abbildung 3-3: Lichtmikroskopische Darstellung eines Plattenepithelkarzinoms mit starker perinukleärer, nukleärer und zytoplasmatischer COX-2 Expression sowie Arealen schwacher Expression nach immunhistochemischer Färbung (10fache Vergrößerung), HE-Färbung



Anhand des Verteilungsscores wurden die Präparate als COX-2-negativ (Score 1) oder COX-2-positiv (Score 2-5) eingeteilt.

Bei Betrachtung der einzelnen Tumorarten konnten deutliche Unterschiede hinsichtlich einer COX-2 Expression festgestellt werden. Zunächst zeigte sich bei zusammenfassender Beurteilung der 87 untersuchten Karzinome eine COX-2 Expression bei 85% (n=74) der Proben, während dies lediglich auf 41% (n=9) der Chondrosarkome zutraf. Von den fünf untersuchten Ästhesioneuroblastomen zeigten vier ein Vorliegen von COX-2, wobei drei eine Kombination aus schwach und stark anfärbenden Arealen vereinten.

Weiterhin wurden deutliche Unterschiede im Vergleich der Karzinom-Subtypen auffällig. COX-2 konnte in 100% der Plattenepithelkarzinome (n=21) nachgewiesen werden, während nur 61% der Adenokarzinome (n=14) COX-2 exprimierten. Einen ähnlich hohen Anteil wie bei Plattenepithelkarzinomen wiesen die Undifferenzierten Karzinome mit 96% COX-2-positiver Proben (n=22) auf, gefolgt von den Übergangsepithelkarzinomen mit 85% der Proben (n=17).

Eine Übersicht der Resultate aller vier Bewertungskriterien hinsichtlich einer COX-2 Expression (COX-2 Färbeintensität sowie Verteilungs-, Intensitäts- und COX-2 Score) ist, zusammengefasst nach Tumorart, in **Tabelle 3-8** dargestellt. Eine graphische Darstellung der Resultate ist in **Abbildung 3-4** (Verteilungsscore), **Abbildung 3-5** (Intensitätsscore) und **Abbildung 3-6** (COX-2 Score) wiedergegeben.

Tabelle 3-8: Resultate der COX-2 Färbeintensität sowie der Mittelwerte für den Verteilungs-, Intensitäts- und COX-2 Score kaniner intranasaler Neoplasien (n=114) differenziert nach Tumorart

Tumorart mit Anzahl untersuchter Proben	COX-2 Färbeintensität	Anzahl	Mittelwert COX-2 Verteilungs-score	Mittelwert COX-2 Intensitäts-score ^a	Mittelwert COX-2 Score ^a
Adenokarzinom n=23	fehlend	9	2,00	2,07	5,71
	nur schwach	3			
	schwach und stark	11			
Plattenepithelkarzinom n=21	fehlend	0	2,86	2,52	7,29
	nur schwach	5			
	schwach und stark	16			
Übergangsepithelkarzinom n=20	fehlend	3	2,45	2,24	6,12
	nur schwach	4			
	schwach und stark	13			
Undifferenziertes Karzinom n=23	fehlend	1	4,17	2,27	10,18
	nur schwach	5			
	schwach und stark	17			
Chondrosarkom n=22	fehlend	13	1,50	1,33	3,33
	nur schwach	6			
	schwach und stark	3			
Ästhesioneuroblastom n=5	fehlend	1	2,20	2,00	5,00
	nur schwach	1			
	schwach und stark	3			

^a Bewertung des Intensitätsscores und COX-2 Scores nur bei COX-2-positiven Tumoren

Der Anteil COX-2-negativer Präparate war, mit Ausnahme der Chondrosarkome und Adenokarzinome, bei denen dieser Anteil 59% (n=13) beziehungsweise 39% (n=9) darstellte, sehr gering. Im Gegensatz dazu zeigten Plattenepithelkarzinome mit 76% (n=16) und Undifferenzierte Karzinome mit 74% (n=17) den höchsten Anteil von Tumoren mit einer Kombination aus starker und schwacher COX-2 Expression.

Bei Betrachtung des COX-2 Verteilungsscores war ein außerordentlich hoher Wert von 4,17 bei Undifferenzierten Karzinomen festzustellen, wohingegen der Wert bei Chondrosarkomen mit 1,5 auffällig niedrig lag. Alle anderen Tumorarten lagen im Bereich von 2,00 bis 2,86.

Der COX-2 Intensitätsscore lag zwischen 2,00 und 2,27, mit Ausnahme von zwei Tumorarten. Hier wiesen die COX-2-positiven Chondrosarkome (n=9) erneut den niedrigsten Wert von 1,33 auf, während der höchste Wert von 2,52 in diesem Fall bei den Plattenepithelkarzinomen zu finden war.

Die Verteilung der Tumorarten in Bezug auf den berechneten COX-2 Score war vergleichbar zum Verteilungsscore, da hier der Wert für die Undifferenzierten Karzinome im Mittel bei 10,18 und bei Chondrosarkomen bei nur 3,33 lag. Alle anderen Tumoren lagen im Bereich von 5,00 bis 7,29.

Abbildung 3-4: Graphische Darstellung des mittleren COX-2 Verteilungsscores kaniner intranasaler Tumoren (n=114) differenziert nach Tumorart

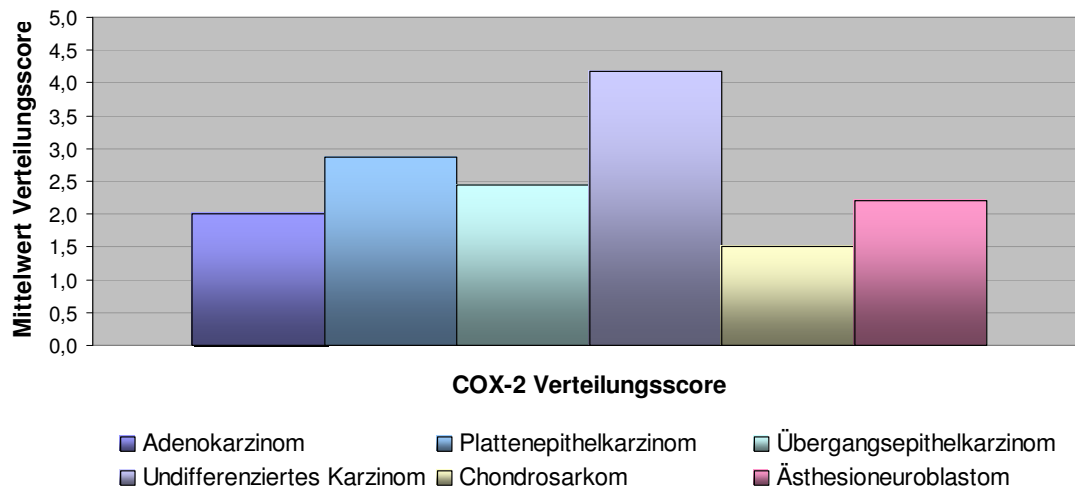


Abbildung 3-5: Graphische Darstellung des mittleren COX-2 Intensitätsscores COX-2-positiver kaniner intranasaler Tumoren (n=87) differenziert nach Tumorart

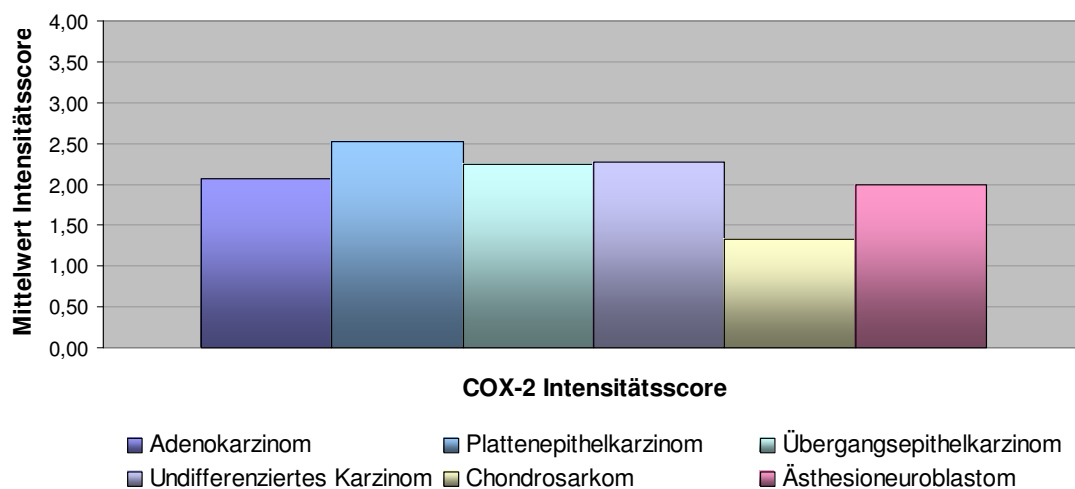
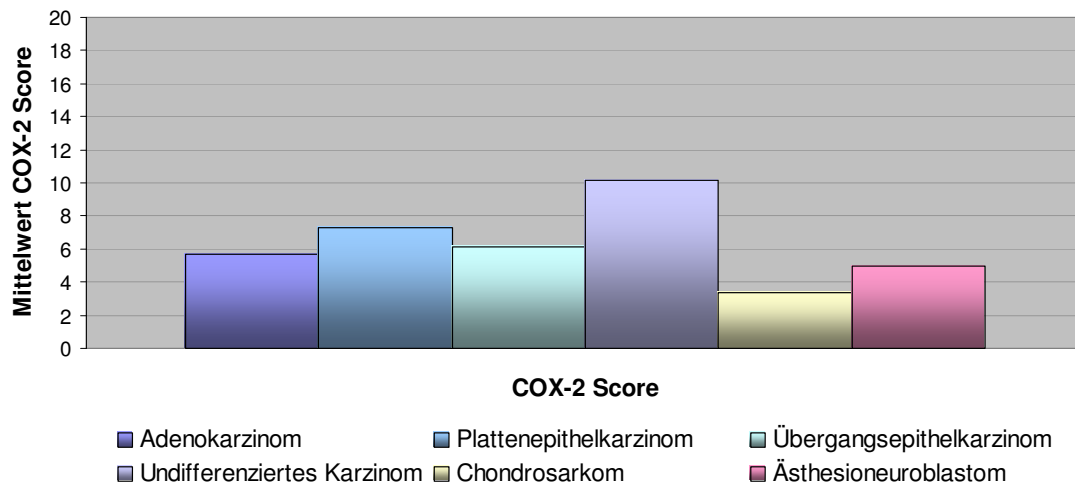


Abbildung 3-6: Graphische Darstellung des mittleren COX-2 Scores COX-2-positiver kaniner intranasaler Tumoren (n=87) differenziert nach Tumorart



3.2.1.1 Statistische Auswertung

Im Rahmen der deskriptiven Statistik wurden zweidimensionale Häufigkeitstabellen angefertigt, die die Ergebnisse der unterschiedlichen Tumorarten in Bezug auf den COX-2 Verteilungsscore, wie in **Tabelle 3-9** dargestellt, sowie in Bezug auf den Intensitätsscore, wie in **Tabelle 3-10** dargestellt, zusammenfassen. Wie in Kapitel 3.1.2.11 erwähnt, schloss diese Auswertung die fünf Ästhesioneuroblastome aus, so dass sich die Auswertung auf insgesamt 109 Proben bezieht. Ebenfalls nicht ausgewertet wurden die Ergebnisse des COX-2 Scores.

Tabelle 3-9: Zweidimensionale Häufigkeitstabelle zur zusammenfassenden Darstellung der Ergebnisse (n=109) des COX-2 Verteilungsscores differenziert nach Tumorart

Tumorart	Verteilungsscore					Summe
	<5%	5-25%	26-50%	51-75%	>75%	
Adenokarzinom	9	6	7	1	0	23
Plattenepithelkarzinom	0	8	8	5	0	21
Übergangsepithelkarzinom	3	8	6	3	0	20
Undifferenziertes Karzinom	1	1	4	4	13	23
Chondrosarkom	13	7	2	0	0	22
Summe	26	30	27	13	13	109

Tabelle 3-10: Zweidimensionale Häufigkeitstabelle zur zusammenfassenden Darstellung der Ergebnisse (n=83) des COX-2 Intensitätsscores differenziert nach Tumorart

Tumorart	Intensitätsscore				Summe
	<5%	5-25%	26-50%	>50%	
Adenokarzinom	3	7	4	0	14
Plattenepithelkarzinom	5	4	8	4	21
Übergangsepithelkarzinom	4	7	4	2	17
Undifferenziertes Karzinom	5	9	5	3	22
Chondrosarkom	6	3	0	0	9
Summe	23	30	21	9	83

Dabei wurde bereits ersichtlich, dass 57% (n=13) der Undifferenzierten Karzinome den höchsten Verteilungsscore (>75% COX-2-positive Zellen) aufwiesen, während ein ähnlicher Anteil der Chondrosarkome von 59% (n=13) COX-2-negativ war (<5% COX-2-positiver Zellen). Zudem wurde bei keiner anderen Tumorart eine COX-2 Expression in >75% der Zellen nachgewiesen. Dieser deutliche Unterschied zwischen Undifferenzierten Karzinomen und Chondrosarkomen erwies sich erwartungsgemäß als statistisch hochgradig signifikant (siehe unten).

Der globale Vergleich der fünf Tumorarten bezüglich der COX-2 Verteilungs- und Intensitätsscores mithilfe des Kruskal-Wallis-Tests wies insbesondere für den COX-2 Verteilungsscore ($p < 0,0001$), aber auch für den COX-2 Intensitätsscore ($p = 0,038$) statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Tumorarten nach.

Die dabei erfolgte Rangzuordnung der Ergebnisse des COX-2 Verteilungsscore wies deutliche Unterschiede im Mittelwert auf (siehe **Tabelle 3-11**).

Tabelle 3-11: Darstellung der Rangordnungsmittelwerte des COX-2 Verteilungsscores von fünf unterschiedlichen Tumorarten

COX-2 Verteilungsscore	Häufigkeit	Mittelwert Rang
Adenokarzinom	23	41,3
Chondrosarkom	22	27,6
Plattenepithelkarzinom	21	63,9
Übergangsepithelkarzinom	20	53,1
Undifferenziertes Karzinom	23	88,4

Aufgrund dieser statistisch signifikanten Unterschiede wurden nachfolgend multiple Vergleiche nach Nemenyi durchgeführt, woraufhin sich in Bezug auf den COX-2 Verteilungsscore für folgende vier Vergleichspaare statistisch signifikante Unterschiede zeigten (Details siehe **Tabelle 10-1** im Anhang):

- Adenokarzinom - Undifferenziertes Karzinom: $p < 0,0001$
- Chondrosarkom - Plattenepithelkarzinom: $p = 0,0066$
- Chondrosarkom - Undifferenziertes Karzinom: $p < 0,0001$
- Übergangsepithelkarzinom - Undifferenziertes Karzinom: $p = 0,0097$

Im Gegensatz dazu waren beim Vergleich der COX-2 Intensitätsscores keinerlei statistische Signifikanzen nachzuweisen, lediglich der Vergleich zwischen Chondrosarkomen und Plattenepithelkarzinomen wies ein nahe dem Signifikanzlevel liegendes Ergebnis ($p = 0,062$) auf (Details siehe **Tabelle 10-2** im Anhang).

3.2.2 Klinische Anwendungsstudie

3.2.2.1 Patientengut

Die Patientendaten bezüglich Rasse, Alter, Geschlecht und Gewicht zu Therapiebeginn sind in **Tabelle 3-12** dargestellt.

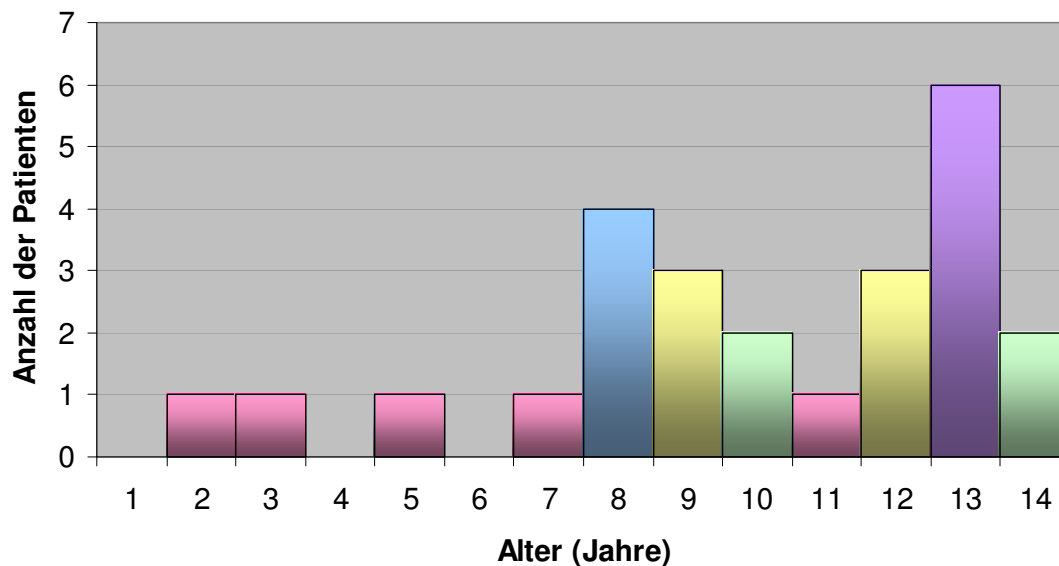
Tabelle 3-12: Patientendaten zu Therapiebeginn (n=25)

Patienten Nr.	Rasse	Alter (Jahre)	Geschlecht	Gewicht (kg)
1	Golden Retriever	13	wk	32,0
2	Dackel-Mischling	13	wk	12,5
3	Mischling	11	wk	35,0
4	Zwergschnauzer	14	m	12,5
5	West Highland White Terrier	13	w	9,0
6	Cocker Spaniel	12	mk	11,0
7	Mischling	10	mk	25,0
8	Golden Retriever	9	m	43,5
9	Staffordshire-Terrier-Mischling	5	wk	29,5
10	Leonberger	3	m	60,0
11	Pon	7	w	15,0
12	Mischling	13	mk	16,0
13	Pudel-Mischling	14	m	8,0
14	Deutscher Jagdterrier	13	m	10,5
15	Podenco	8	mk	30,0
16	Deutscher Jagdterrier	12	mk	5,5
17	Border Collie	8	m	17,0
18	Deutscher Schäferhund	10	w	42,0
19	Dackel-Mischling	8	wk	7,5
20	Golden Retriever	9	w	29,5
21	Golden Retriever	8	w	32,0
22	Labrador Retriever	9	m	42,0
23	Riesenschnauzer	12	m	44,0
24	Mischling	2	wk	28,0
25	Griffon	13	mk	33,0

m= männlich; w= weiblich; k = kastriert

Das mediane Alter der Hunde lag bei 10 Jahren (Streubreite 2 bis 14 Jahre). Die Altersverteilung der Studienpatienten ist in **Abbildung 3-7** graphisch dargestellt. Dabei konnte eine unterschiedliche Altersstruktur zwischen Hunden mit Sarkomen (n=9) und Hunden mit Karzinomen (n=15) mit median acht bzw. zwölf Jahren festgestellt werden. Bei differenzierter Betrachtung der Chondrosarkom-Patienten (n=5) lag das mediane Alter bei sieben Jahren, das der Adenokarzinom-Patienten (n=5) hingegen bei 13 Jahren.

Abbildung 3-7: Graphische Darstellung der Altersverteilung der Patienten (n=25) zu Studienbeginn



Die 25 Patienten dieser Studie setzten sich aus 14 (56%) männlichen (sechs kastriert) und elf (44%) weiblichen Hunden (sechs kastriert) zusammen.

Das mediane Körpergewicht (KG) der Patienten lag bei 28 kg (Streubreite 5,5 bis 60 kg). Anhand des Körpergewichtes wurden die Patienten in zwei Gruppen unterteilt:

- kleine Hunde mit <20 kg KG
- große Hunde mit ≥ 20 kg KG

Den kleinen Hunden konnten 44% und den großen Hunden 56% der Patienten zugeordnet werden.

Siebzehn der untersuchten Hunde (68%) waren reinrassig, während acht Hunde (32%) Mischlinge darstellten. In **Tabelle 3-13** ist die Rasseverteilung, unterteilt nach kleinen und großen Hunden, zusammengefasst.

Tabelle 3-13: Rasseverteilung der Patienten unterteilt nach kleinen (<20 kg KG) und großen Hunden (≥20 kg KG) (n=25)

	Rassehunde	Anzahl	Mischlinge	Anzahl
Kleine Hunde (<20 kg KG)	Deutscher Jagdterrier	2	Dackel-Mischling	2
	Zwergschnauzer	1	Pudel-Mischling	1
	West Highland White Terrier	1	unbekannter Mischling	1
	Cocker Spaniel	1		
	Pon	1		
Große Hunde (≥ 20 kg KG)	Golden Retriever	4	Staffordshire-Terrier-Mischling	1
	Labrador Retriever	1	unbekannter Mischling	3
	Leonberger	1		
	Deutscher Schäferhund	1		
	Podenco	1		
	Border Collie	1		
	Riesenschnauzer	1		
	Griffon	1		

Unter den Rassehunden (n=17) waren 13 verschiedene Rassen vertreten, wobei Retriever (n=5) den größten Anteil darstellten, gefolgt von den Deutschen Jagdterriern (n=2). Alle anderen Rassen waren nur in Einzelfällen vertreten.

3.2.2.2 Klinische Initialbefunde

Anamnese und allgemeine klinische Untersuchung

Vorberichtlich zeigten die Patienten eine klinische Symptomatik seit median 12 Wochen (Streubreite 2 bis 80 Wochen).

Der überwiegende Anteil der Patienten (68%) wurde mit Antibiotika und/oder Antiphlogistika vorbehandelt, wodurch es bei sechs Hunden (35%) zu einer temporären Symptomverbesserung kam. Gemäß den Einschlusskriterien wurde kein Patient längerfristig mit NSAIDs in den drei Monaten vor Therapiebeginn behandelt.

Die vorherrschende Symptomatik der Patienten am Vorstellungstag umfasste Nasenausfluss (n=24), vermehrtes Niesen (n=24), einen nasalen Stridor sowie Röcheln (jeweils n=12). In geringerer Häufigkeit fielen Epiphora (n=9), eine Zubildung auf dem Nasenrücken (n=7) und Würgen (n=4) auf. Eine hochgradige Störung des Allgemeinbefindens lag aufgrund der Einschlusskriterien bei keinem der Patienten vor, jedoch zeigten vier Patienten eine geringgradige Apathie. Störungen des Schlafverhaltens fielen ebenfalls bei vier Patienten auf. Weiterhin wiesen drei

Patienten mit Vorliegen einer subkutanen Zubildung eine Dolenz bei Palpation in diesem Bereich auf und zwei Patienten zeigten seit Beginn der nasalen Symptomatik vermehrtes Hecheln.

Eine Übersicht der initialen klinischen Symptome mit Beurteilung des Ausprägungsgrades in Anlehnung an Kapitel 3.1.2.3 ist in **Tabelle 3-14** dargestellt.

Tabelle 3-14: Initiale klinische Symptomatik der Studienpatienten (n=25)

Patienten Nr.	Nasen-ausfluss	Niesen	Stridor nasalis	Epiphora	Zubildung Subkutis	Sonstiges (Ausprägung: +)
1	++	+	+++	-	-	Röcheln, Apathie
2	+	+++	-	-	ja	Dolenz
3	++	+++	-	ja	ja	Röcheln
4	++	+++	+++	-	-	Röcheln, Schlafstörung
5	++	+++	-	ja	ja	Apathie
6	++	+++	-	ja	ja	Dolenz
7	++	+	+	-	-	-
8	+	+++	+++	-	ja	-
9	+	+++	-	ja	ja	-
10	++	+++	-	ja	-	-
11	++	+	+++	-	-	Röcheln, Schlafstörung
12	+	+	-	ja	-	Hecheln
13	++	+++	-	-	-	-
14	+	+++	-	-	-	Röcheln
15	+++	+++	+++	-	-	Würgen, Röcheln
16	+	+++	+	-	-	Würgen, Röcheln
17	++	-	+++	-	-	Würgen, Röcheln, Schlafstörungen
18	++	+++	+++	ja	-	Schlafstörung, Röcheln, Würgen
19	++	+++	+	-	-	Apathie, Röcheln
20	+	+++	+	ja	-	-
21	+	+++	-	-	-	Röcheln
22	-	+++	-	ja	ja	Dolenz
23	++	+++	-	-	-	-
24	+	+	-	-	-	-
25	++	+++	+++	-	-	Röcheln, Apathie, Hecheln

+ = geringgradig; ++ = mittelgradig; +++ = hochgradig; - = nicht vorhanden

Der Nasenausfluss wies bei drei Vierteln der Patienten einen purulenten bis hämorrhagischen Charakter auf (n=18), während ein Viertel der Hunde (n=6) unter serösem bis serös-hämorrhagischem Nasenausfluss litt. Von 24 Patienten mit Nasenausfluss zeigten neun Hunde geringgradigen, 14 Hunde mittelgradigen und ein Hund hochgradigen Nasenausfluss. Auffällig war bei vielen Patienten ein vermehrtes Auftreten von hämorrhagischem Ausfluss im Anschluss an starkes Niesen. Der überwiegende Anteil der Patienten wies zum Diagnosezeitpunkt unilateralen

Nasenausfluss auf (n=21, 88%), lediglich drei Patienten litten unter bilateralem Ausfluss. In **Tabelle 3-15** ist eine Zusammenfassung der Details bezüglich des Nasenausflusses dargestellt.

Tabelle 3-15: Details bezüglich des Nasenausflusses der Studienpatienten (n=25) zum Zeitpunkt der initialen Untersuchung

Patienten Nr.	Nasenausfluss		
	Lokalisation	Grad	Charakter
1	Unilateral links	++	Purulent-hämorrhagisch
2	Unilateral rechts	+	Purulent-hämorrhagisch
3	Unilateral rechts	++	Purulent-hämorrhagisch
4	Unilateral links	++	Serös-hämorrhagisch
5	Unilateral rechts	++	Purulent-hämorrhagisch
6	Unilateral rechts	++	Purulent-hämorrhagisch
7	Unilateral links	++	Purulent-hämorrhagisch
8	Unilateral rechts	+	Purulent-hämorrhagisch
9	Unilateral links	+	Serös-hämorrhagisch
10	Unilateral rechts	++	Purulent-hämorrhagisch
11	Unilateral links	++	Purulent-hämorrhagisch
12	Unilateral rechts	+	Serös
13	Bilateral	++	Purulent-hämorrhagisch
14	Unilateral links	+	Hämorrhagisch
15	Bilateral	+++	Purulent-hämorrhagisch
16	Unilateral rechts	+	Hämorrhagisch
17	Unilateral links	++	Purulent-hämorrhagisch
18	Unilateral links	++	Purulent-hämorrhagisch
19	Unilateral links	++	Purulent-hämorrhagisch
20	Unilateral links	+	Purulent
21	Unilateral links	+	Purulent-hämorrhagisch
22	-	-	-
23	Unilateral links	++	Serös-hämorrhagisch
24	Unilateral links	+	Serös-hämorrhagisch
25	Bilateral	++	Serös

+ =geringgradig; ++ = mittelgradig; +++ = hochgradig

Augenuntersuchung

Im Rahmen der Augenuntersuchung zeigten neun Patienten Epiphora und sieben Patienten eine unilateral verminderte Retropulsionsmöglichkeit des Augapfels. Die Tränenproduktion im Schirmer Tränentest wies bei 24 Patienten physiologische Werte auf (siehe **Tabelle 3-16**), lediglich Patient Nr. 19 zeigte bereits initial eine bilaterale Verminderung der Tränenproduktion (8 mm/min).

Tabelle 3-16: Initiale Ergebnisse der Tränenproduktion aller Studienpatienten (n=25) mittels Schirmer Tränentest (STT)

Patienten Nr.	STT links (mm/min)	STT rechts (mm/min)	Patienten Nr.	STT links (mm/min)	STT rechts (mm/min)
1	>15	>15	14	>15	>15
2	>15	>15	15	>15	>15
3	>15	>15	16	>15	>15
4	>15	>15	17	>15	>15
5	>15	>15	18	>15	>15
6	>15	>15	19	8	8
7	>15	>15	20	>15	>15
8	>15	>15	21	>15	>15
9	>15	>15	22	>15	>15
10	>15	>15	23	>15	>15
11	>15	>15	24	>15	>15
12	>15	>15	25	>15	>15
13	>15	>15			

Neurologische Untersuchung der Kopfnerven

Bei drei Hunden dieser Studie wurden initial auffällige Befunde während der neurologischen Untersuchung erhoben oder über neurologische Defizite während der Anamnese berichtet (siehe **Tabelle 3-17**). Diese umfassten Orientierungsschwierigkeiten (n=2), Verhaltensänderungen (n=1), eine periokuläre Hyperästhesie (n=1) sowie einen ventralen positionellen Strabismus (n=1). Jeder dieser Patienten zeigte eine Tumorextension in das Gehirn und befand sich somit im Stadium IV (siehe Kapitel 2.1.5).

Tabelle 3-17: Neurologische Symptome zum Zeitpunkt der initialen Untersuchung der Patienten (n=3)

Patienten Nr.	Neurologische Symptome
5	rechts periokuläre Hyperästhesie, ventraler positioneller Strabismus
12	Orientierungsschwierigkeiten
17	Verhaltensänderungen, Orientierungsschwierigkeiten

Laboregebnisse

Hämatologie und Klinische Chemie

Von den Referenzbereichen abweichende Befunde in der hämatologischen Blutuntersuchung konnten bei 15 Patienten (60%), überwiegend in Form einer Leukozytose, Anämie oder Thrombozytose, festgestellt werden. Dabei wurde bei acht Patienten eine Leukozytose mit einer mittleren Leukozytenzahl von 15 G/l (Standardabweichung 15 G/l; Streubreite 13 bis 57 G/l), meist infolge einer Neutrophilie, nachgewiesen. Eine Anämie lag bei fünf Patienten vor, wobei diese Patienten eine mittlere Erythrozytenzahl von 4,3 G/l (Standardabweichung 0,6 G/l; Streubreite 3,6 bis 5,0 G/l) und einen mittleren Hämatokrit von 0,31 l/l (Standardabweichung 0,04 l/l; Streubreite 0,24 bis 0,35 l/l) aufwiesen. Bei sechs Patienten konnte der Befund einer Thrombozytose von im Mittel 588 G/l (Standardabweichung 56 G/l; Streubreite 549 bis 684 G/l) festgestellt werden.

Abweichende Befunde in der klinischen Chemie wiesen insgesamt zehn Patienten (40%) auf. Fünf Patienten zeigten moderate Erhöhungen eines oder mehrerer Leberenzyme (Alanin-Aminotransferase [ALT], Alkalische Phosphatase [ALKP], Gamma-Glutamyltransferase [γ -GT], Glutamatdehydrogenase [GLDH]). Bei drei Patienten lag der Harnstoffgehalt oberhalb des Referenzbereiches (49 bis 74 mg/dl), wobei dies in keinem der Fälle mit einer Kreatininerhöhung einherging. Ein Patient wies eine geringgradige Hypoalbuminämie von 2,6 g/dl auf. Details bezüglich der von der Norm abweichenden Befunde aus Hämatologie und klinischer Chemie sind aus **Tabelle 10-3** im Anhang zu entnehmen.

Urinuntersuchung

Im Rahmen der Urinuntersuchung zu Studienbeginn zeigten sich vereinzelt gering ausgeprägte Abweichungen von der Norm. Bei vier Patienten konnte eine geringgradige Proteinurie festgestellt werden, während zwei Patienten eine Hypersthenurie (Spezifisches Gewicht von 1055 bzw. 1060) zeigten.

3.2.2.3 Biopsieergebnisse und COX-2 Diagnostik

Fünf Patienten wurden bereits mit einer histologischen Diagnose des Nasentumors überwiesen, die nachfolgend im Rahmen der COX-2 Auswertung durch unseren Pathologen (Dr. W. von Bomhard) bestätigt wurde. Eine endgültige Diagnose konnte bei acht Patienten erst nach zweiter oder dritter Biopsieentnahme gestellt werden, da zuvor falsch-negative Befunde, wie beispielsweise eine chronische Rhinitis oder Granulationsgewebsbildung, erhoben wurden.

Nach Tumorarten unterteilt stellte sich eine wie in **Tabelle 3-18** zusammengefasste Verteilung dar.

Tabelle 3-18: Verteilung der Tumorarten in der Patientengruppe (n=25)

Karzinome (n=15)	5 wenig- oder hochdifferenzierte Adenokarzinome 1 Plattenepithelkarzinom 2 Übergangsepithelkarzinome 7 Undifferenzierte Karzinome
Sarkome (n=9)	5 Chondrosarkome 1 Osteosarkom 3 Undifferenzierte Sarkome
Andere (n=1)	1 Ästhesioneuroblastom

Damit lagen bei 60% der Patienten (n=15) Karzinome und bei 36% (n=9) Sarkome vor. Adenokarzinome nahmen einen Anteil von insgesamt 20% ein, wobei die größte Gruppe jedoch die Undifferenzierten Karzinome mit 28% der Patienten darstellten. Diese Gruppe umfasste Patienten mit der histologischen Diagnose eines un- oder wenigdifferenzierten Karzinoms sowie solider Karzinome. Auch Patient Nr. 1 wurde in diese Gruppe eingeordnet, obwohl histologisch zunächst die Diagnose eines Ästhesioneuroblastoms gestellt wurde. In einer nachfolgenden immunhistochemischen Untersuchung stellte sich der Tumor allerdings positiv für Zytokeratin und Synaptophysin, jedoch negativ für die Neuronenspezifische Enolase (NSE) dar. Somit erschien die Diagnose eines Undifferenzierten Karzinoms am wahrscheinlichsten, wobei differentialdiagnostisch weiterhin ein Ästhesioneuroblastom oder ein neuroendokrines Karzinom in Betracht zu ziehen war.

Die Undifferenzierten Sarkome umfassten Patienten mit der Diagnose eines un- oder wenigdifferenzierten Sarkoms, wobei auch hier ein Undifferenziertes Sarkom (Patient

Nr. 21) nur über eine immunhistochemische Färbung mittels eines Vimentin-positiven Resultates als Sarkom identifiziert werden konnte. Der Anteil an Chondrosarkomen gemessen an der Gesamtentität der Sarkome lag bei 56%, insgesamt nahmen sie einen Anteil von 20% ein.

Eine graphische Darstellung der prozentualen Verteilung der Tumorarten unterteilt in Karzinome, Sarkome und Ästhesioneuroblastome ist in **Abbildung 3-8** dargestellt, während **Abbildung 3-9** die Verteilung der Karzinom-Subtypen innerhalb der Karzinome graphisch veranschaulicht.

Abbildung 3-8: Prozentuale Verteilung der Tumorarten innerhalb der Patientengruppe (n=25)

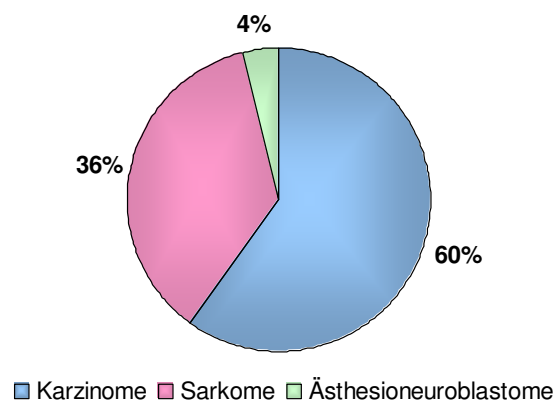
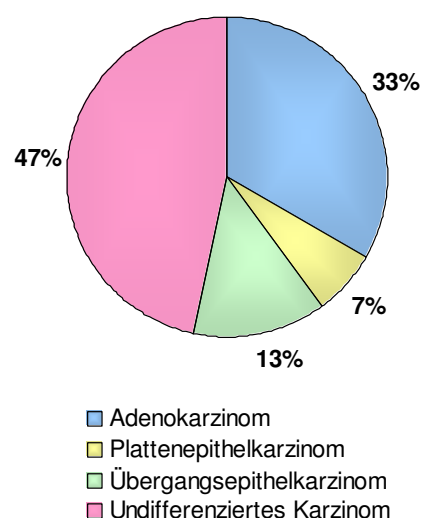


Abbildung 3-9: Prozentuale Verteilung der Karzinom-Subtypen an der Gesamtentität der Karzinome (n=15)



Im Rahmen der immunhistochemischen Färbung hinsichtlich einer COX-2 Expression stellten sich 13 Karzinome (87%), sieben Sarkome (78%) und das Ästhesioneuroblastom als COX-2-positiv dar. Somit wiesen insgesamt 84% der untersuchten Tumoren eine COX-2 Expression auf. Die vier negativ getesteten Proben umfassten zwei Chondrosarkome und je ein Adeno- sowie Übergangsepithelkarzinom. Details zur individuellen Tumorart, COX-2 Expression und den drei immunhistochemischen Scores der Studienpatienten sind in **Tabelle 3-19** zusammengefasst.

Tabelle 3-19: Zusammenfassung der individuellen Tumorarten und COX-2 Expression innerhalb der Patientengruppe (n=25)

Patienten Nr.	Tumorart	COX-2 Expression	Verteilungs-Score ^a	Intensitäts-Score ^b	COX-2 Score ^c
1	Undiff. Karzinom	positiv	3	2	6
2	Undiff. Karzinom	positiv	4	1	4
3	Undiff. Karzinom	positiv	4	2	8
4	Adenokarzinom	positiv	2	1	2
5	Undiff. Karzinom	positiv	4	1	4
6	Ästhesioneuroblastom	positiv	2	3	6
7	Adenokarzinom	negativ	1	Nicht zutreffend	
8	Chondrosarkom	negativ	1	Nicht zutreffend	
9	Chondrosarkom	negativ	1	Nicht zutreffend	
10	Chondrosarkom	positiv	2	2	4
11	Plattenepithelkarzinom	positiv	2	2	4
12	Chondrosarkom	positiv	2	4	8
13	Chondrosarkom	positiv	3	1	3
14	Adenokarzinom	positiv	5	4	20
15	Undiff. Karzinom	positiv	2	1	2
16	Übergangsepithelkarzinom	positiv	4	2	8
17	Undiff. Karzinom	positiv	5	2	10
18	Undiff. Sarkom	positiv	3	1	3
19	Adenokarzinom	positiv	5	2	10
20	Übergangsepithelkarzinom	negativ	1	Nicht zutreffend	
21	Undiff. Sarkom	positiv	5	2	10
22	Osteosarkom	positiv	2	1	2
23	Undiff. Karzinom	positiv	5	2	10
24	Undiff. Sarkom	positiv	4	1	4
25	Adenokarzinom	positiv	5	1	5

Undiff. = undifferenziert

^a 1 = <5%; 2 = 5-25%; 3 = 26-50%; 4 = 51-75%; 5 = >75% der Gesamtzellzahl COX-2 positiv

^b 1 = <5%; 2 = 5-25%; 3 = 26-50%; 4 = >50% der COX-2 positiven Zellzahl stark positiv; Beurteilung nur bei COX-2-positiven Tumoren

^c Berechnung des individuellen COX-2 Scores: Produkt aus den Resultaten des Verteilungs- und Intensitätsscore

Nach Tumorarten zusammengefasst konnten die in **Tabelle 3-20** dargestellten Mittelwerte der COX-2 Expression festgestellt werden. Dabei wurden für die Berechnung der tumorspezifischen Mittelwerte für den Intensitätsscore und COX-2 Score lediglich die COX-2 exprimierenden Tumoren (n=21) einbezogen.

Tabelle 3-20: Mittlerer COX-2 Verteilungsscore, Intensitätsscore sowie COX-2 Score der Studienpatienten (n=25) differenziert nach Tumorart

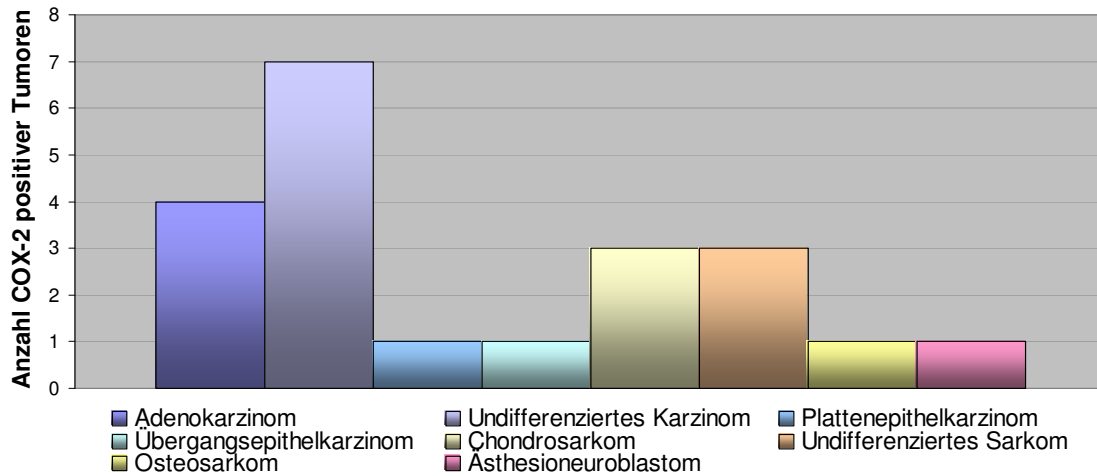
Tumorart	Anzahl	Anzahl COX-2-positiv	Mittelwert Verteilungsscore	Mittelwert Intensitätsscore ^a	Mittelwert COX-2 Score ^a
Adenokarzinom	5	4	3,4	2,0	9,3
Undifferenziertes Karzinom	7	7	3,9	1,6	6,3
Plattenepithelkarzinom	1	1	2,0	2,0	4,0
Übergangsepithelkarzinom	2	1	2,5	2,0	8,0
Karzinome gesamt	15	13	3,0	1,9	6,9
Chondrosarkom	5	3	1,8	2,3	5,0
Undifferenziertes Sarkom	3	3	4,3	1,3	6,0
Osteosarkom	1	1	2,0	1,0	2,0
Sarkome gesamt	9	7	2,7	1,5	4,3
Ästhesioneuroblastom	1	1	2,0	3,0	6,0

^a Zur Berechnung der tumorspezifischen Mittelwerte für den Intensitätsscore und COX-2 Score wurden lediglich die COX-2 exprimierenden Tumoren (n=21) einbezogen

Bei differenzierter Betrachtung von Karzinomen und Sarkomen war nur ein geringer Unterschied bezüglich des Verteilungsscores (3,0 vs. 2,7) oder des Intensitätsscores (1,9 vs. 1,5) festzustellen, während sich der mittlere COX-2 Score mit 6,9 vs. 4,3 etwas deutlicher zwischen Karzinomen und Sarkomen unterschied. Der Unterschied blieb aber auch hier gering.

In **Abbildung 3-10** sind die Zahlen COX-2-positiver Tumoren (n=21) unterteilt nach Tumorart graphisch dargestellt. Dabei war in der Immunhistochemie festzustellen, dass alle untersuchten Proben der Undifferenzierten Karzinome (n=7) und Undifferenzierten Sarkome (n=3) sowie das Plattenepithelkarzinom, Osteosarkom und Ästhesioneuroblastom (jeweils n=1) COX-2-positiv waren.

Abbildung 3-10: Graphische Darstellung der Anzahl COX-2-positiver Tumoren (n=21) unterteilt nach Tumorart



In **Abbildung 3-11** sind die mittleren COX-2 Verteilungsscores und in **Abbildung 3-12** die mittleren COX-2 Intensitätsscores aller betreffenden Studienpatienten nach Tumorart differenziert dargestellt.

Abbildung 3-11: Graphische Darstellung der mittleren Verteilungsscores aller Tumorproben (n=25) unterteilt nach Tumorart

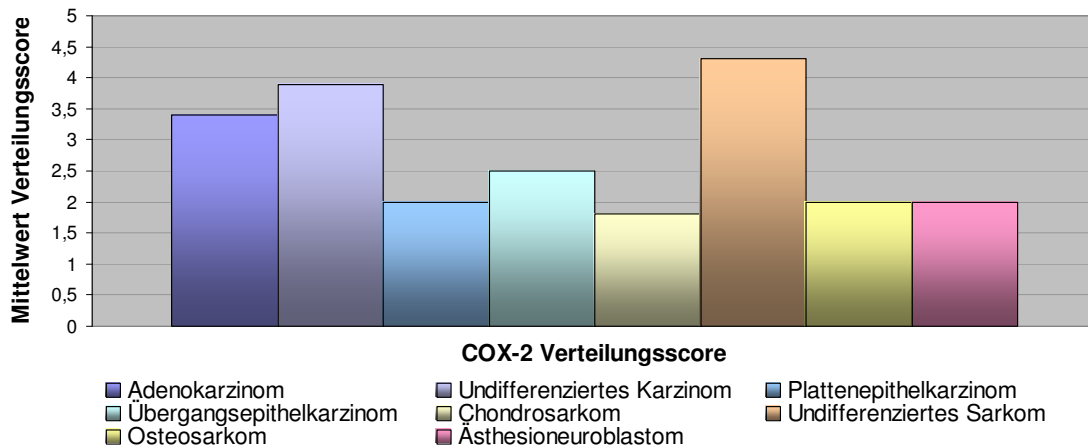
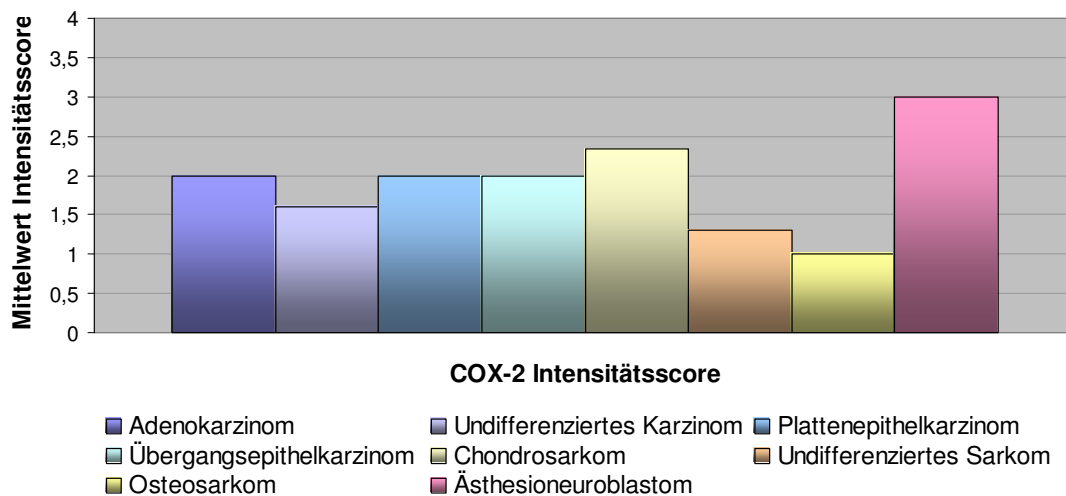


Abbildung 3-12: Graphische Darstellung der mittleren Intensitätsscores der COX-2-positiven Tumoren (n=21) unterteilt nach Tumorart

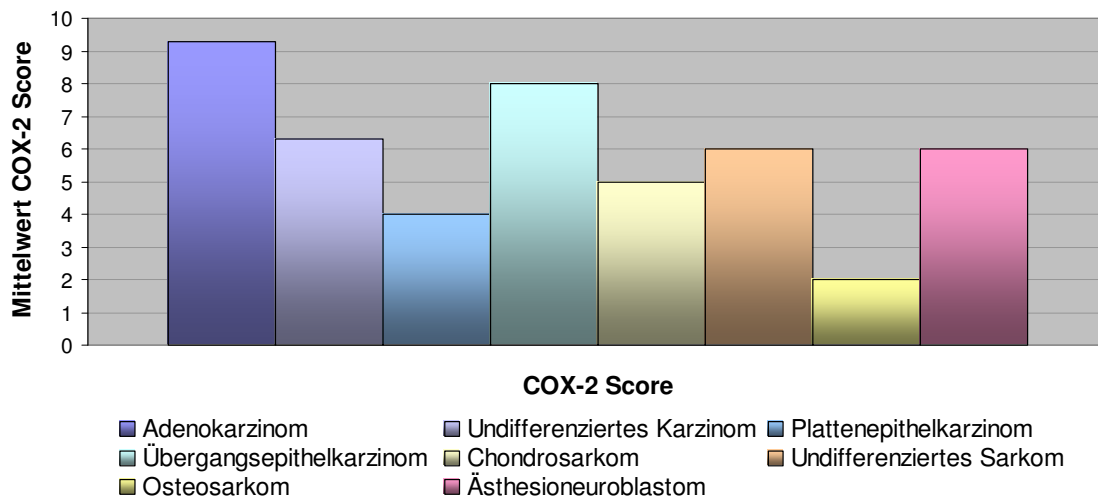


Den höchsten Anteil COX-2-positiver Zellen im immunhistochemisch gefärbten Präparat wiesen die Undifferenzierten Sarkome (n=3) mit einem mittleren Verteilungsscore von 4,3 und die Undifferenzierten Karzinome (n=7) mit 3,9 auf. Beide Gruppen zeigten jedoch nur einen geringen Anteil an stark färbenden Zellen (Intensitätsscore von 1,3 bzw. 1,6). Letzterer war bei dem einzelnen Ästhesioneuroblastom mit 3,0 am höchsten, gefolgt von den COX-2-positiven Chondrosarkomen (n=3) mit 2,3. Insgesamt zeigte sich jedoch nur ein geringer Anteil an COX-2-positiven Zellen stark exprimierend, was sich unter den Tumorarten nur geringfügig unterschied. Die Gesamtheit der Karzinome wies mit einem mittleren Intensitätsscore von 1,9 geringfügig mehr stark COX-2 exprimierende Zellen auf als die Gesamtheit der Sarkome mit einem mittleren Score von 1,5. Dabei fiel jedoch eine individuelle sowie tumorart-spezifische Variabilität auf.

Die individuell stärkste COX-2 Expression, bezogen auf alle drei Scores, zeigte ein Adenokarzinom (Patient Nr. 14), während andere Adenokarzinome wiederum nur eine geringe COX-2 Expression zeigten oder COX-2-negativ waren (n=1).

Abbildung 3-13 stellt die mittlere Verteilung des COX-2 Scores aller COX-2-positiven Tumoren (n=21) nach Tumorart differenziert dar.

Abbildung 3-13: Graphische Darstellung der mittleren COX-2 Scores der COX-2-positiven Tumoren (n=21) unterteilt nach Tumorart



Den höchsten COX-2 Score wiesen die COX-2-positiven Adenokarzinome (n=4) mit 9,3 auf, gefolgt von dem Einzelfall des COX-2-positiven Übergangsepithelkarzinoms mit 8,0. Aber auch die Undifferenzierten Karzinome (n=7) und Sarkome (n=3) sowie das einzelne Ästhesioneuroblastom zeigten mit Werten von 6,0 bis 6,3 relativ hohe Ergebnisse. Die geringsten Werte erreichten die COX-2-positiven Chondrosarkome (n=3) und das Osteosarkom mit 5,0 bzw. 2,0.

3.2.2.4 Stadieneinteilung

Die initiale Stadieneinteilung der Nasentumoren zeigte, dass sieben Hunde (28%) Tumoren in Stadium I, zehn Hunde (40%) in Stadium III und acht Hunde (32%) in Stadium IV aufwiesen. Dem Stadium II konnte kein Patient zugeordnet werden. Damit zeigten nahezu drei Viertel der Patienten zum Diagnosezeitpunkt bereits eine Invasivität des Nasentumors in extranasale Strukturen (72%), wovon acht Patienten eine Osteolyse der kribriformen Platte aufwiesen. Letztere wurde insbesondere bei Hunden mit Karzinomen (n=7) festgestellt, aber auch ein Chondrosarkom-Patient wies eine Destruktion der kribriformen Platte auf. Eine Metastasierung in die regionalen Lymphknoten wurde bei Patient Nr. 19, basierend auf der histologischen Diagnose eines wenigdifferenzierten Adenokarzinoms, festgestellt. Hinweise auf pulmonale Fernmetastasen lagen, außer bei Patient Nr. 5, der einen pulmonalen Rundherd von 0,8 cm Durchmesser aufwies, nicht vor (siehe **Abbildung 3-15**). Dieser wurde aufgrund nicht vorliegender Sekundärerkrankungen trotz fehlender

histologischer Diagnose als Metastase des intranasalen Karzinoms eingeordnet (siehe **Abbildung 3-14**).

Abbildung 3-14: Pulmonaler weichteildichter Rundherd (siehe Pfeil) im Rahmen der initialen computertomographischen Untersuchung der Lunge von Patient Nr. 5, Lungenfenster, nach Kontrastmittelgabe

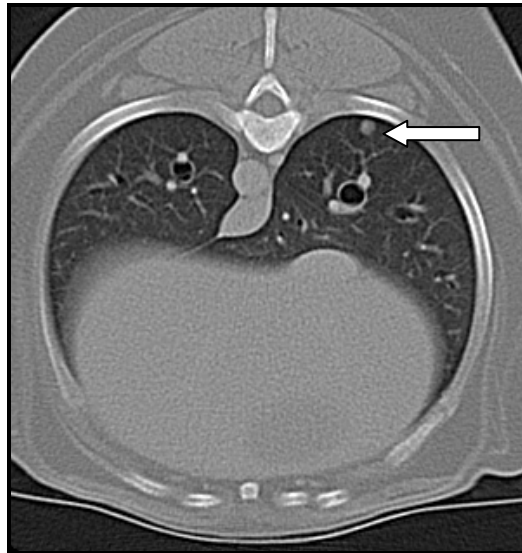
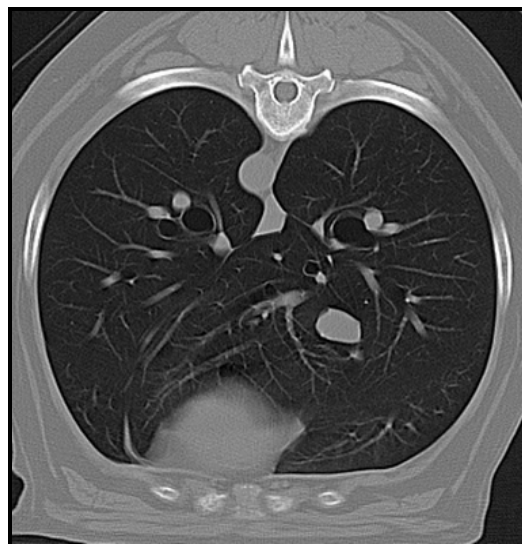


Abbildung 3-15: Computertomographische Darstellung einer physiologischen Lungenstruktur ohne Hinweis auf Metastasen (Patient Nr. 3), Lungenfenster, nach Kontrastmittelgabe



Eine Übersicht der individuellen initialen Tumorstadien sowie der involvierten Umgebungsstrukturen ist in **Tabelle 3-21** und eine graphische Darstellung in **Abbildung 3-16** gegeben.

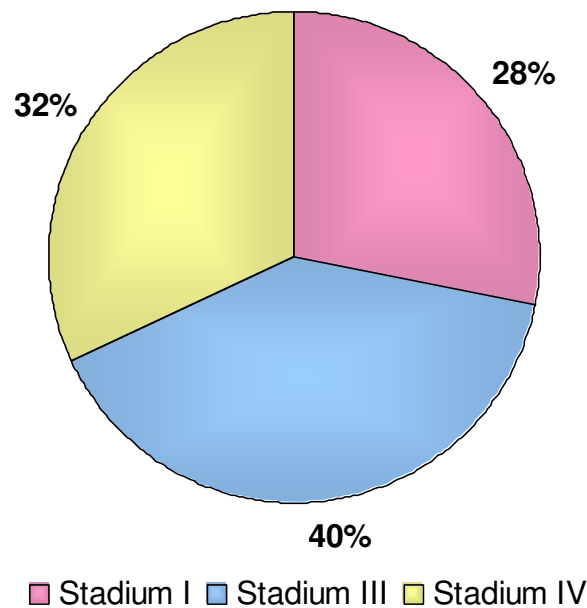
Tabelle 3-21: Initiale Tumorstadien der Studienpatienten (n=25) basierend auf dem TNM-Schema nach ADAMS et al. (2009) sowie Darstellung der Tumorinvasion in Umgebungsstrukturen

Patienten Nr.	Tumorart	T	N	M	Invasion in Umgebungsstrukturen (bei T III und T IV)	Beteiligung der Stirnhöhlen
1	Undiff. CA	III	0	0	NP	UL komplett
2	Undiff. CA	III	0	0	SK, SM	UR komplett
3	Undiff. CA	IV	0	0	KP, O	B (R komplett, L partiell)
4	ACA	III	0	0	O	UL komplett
5	Undiff. CA	IV	0	1*	KP, O, SK	B (R komplett, L partiell)
6	ÄNB	III	0	0	O, SK	UR komplett
7	ACA	IV	0	0	KP	B (L komplett, R partiell)
8	CSA	III	0	0	SK	B (R komplett, L partiell)
9	CSA	III	0	0	SK	B partiell
10	CSA	I	0	0	-	-
11	SCC	IV	0	0	KP, O	UL partiell
12	CSA	III	0	0	O	UR komplett
13	CSA	IV	0	0	KP, NP	UL komplett
14	ACA	IV	0	0	KP	UL komplett
15	Undiff. CA	III	0	0	NP	UR komplett
16	TCC	I	0	0	-	UR komplett
17	Undiff. CA	IV	0	0	KP, O, NP	UL komplett
18	Undiff. SA	III	0	0	NP	UL partiell
19	ACA	IV	1	0	KP, O, NP, SM	UL komplett
20	TCC	I	0	0	-	UL komplett
21	Undiff. SA	I	0	0	-	-
22	OSA	III	0	0	O	UL partiell
23	Undiff. CA	I	0	0	-	-
24	Undiff. SA	I	0	0	-	UL komplett
25	ACA	I	0	0	-	UL komplett

T = Tumorstadium; N = regionale Lymphknotenmetastasen; M = Fernmetastasen; Undiff. = Undifferenziert;
CA = Karzinom; ACA = Adenokarzinom; ÄNB = Ästhesioneuroblastom; CSA = Chondrosarkom; SCC =
Plattenepithelkarzinom; TCC = Übergangsepithelkarzinom; SA = Sarkom; OSA = Osteosarkom; NP= Nasopharynx;
SK = Subkutis; SM = Submukosa; O = Orbita; KP = kribriorme Platte; UL = unilateral links; UR = unilateral rechts;
B = bilateral; L = links; R = rechts
0 = nicht vorhanden; 1 = vorhanden

* nicht histologisch nachgewiesen, beruhend auf klinischem Verdacht

Abbildung 3-16: Prozentuale Verteilung der initialen Tumorstadien aller Studienpatienten (n=25)



In den beiden folgenden Tabellen ist die Verteilung der Tumorstadien differenziert nach Tumorarten dargestellt. Dabei stellt **Tabelle 3-22** die Resultate nach grober Unterteilung der Tumorart (Karzinom, Sarkom und Ästhesioneuroblastom) und **Tabelle 3-23** nach feiner Unterteilung der Tumorart (Adenokarzinom, sonstige Karzinome, Chondrosarkom, sonstige Sarkome und Ästhesioneuroblastom) dar.

Tabelle 3-22: Verteilung der Tumorstadien in Bezug auf die Tumorart nach grober Unterteilung (n=25)

Tumorstadium	Anzahl	Tumorart grob		
		Karzinom	Sarkom	Ästhesioneuroblastom
I	7	4	3	0
III	10	4	5	1
IV	8	7	1	0

Tabelle 3-23: Verteilung der Tumorstadien in Bezug auf die Tumorart nach feiner Unterteilung (n=25)

Tumor-stadium	Anzahl	Adeno-karzinom	sonstige Karzinome	Tumorart fein Chondro-sarkom	sonstige Sarkome	Ästhesio-neuroblastom
I	7	1	3	1	2	0
III	10	1	3	3	2	1
IV	8	3	4	1	0	0

In den folgenden Abbildungen sind Beispiele für die computertomographische Darstellung der drei in dieser Studie vorliegenden Tumorstadien aufgeführt. **Abbildung 3-17** zeigt Patient Nr. 24, der unter einem Undifferenzierten Sarkom in Stadium I litt. In **Abbildung 3-18** ist ein Chondrosarkom (Patient Nr. 8) mit deutlicher Invasivität in die Subkutis dargestellt, das somit dem Stadium III zugeordnet wurde. Ein Plattenepithelkarzinom (Patient Nr. 11) in Stadium IV, mit hochgradiger Invasivität in das Gehirn infolge einer Destruktion der kribriformen Platte, ist in **Abbildung 3-19** abgebildet.

Abbildung 3-17: Tumorstadium I nach Adams et al. (2009), Patient Nr. 24 (Undifferenziertes Sarkom), CT, Weichteilfenster, nach Kontrastmittelgabe

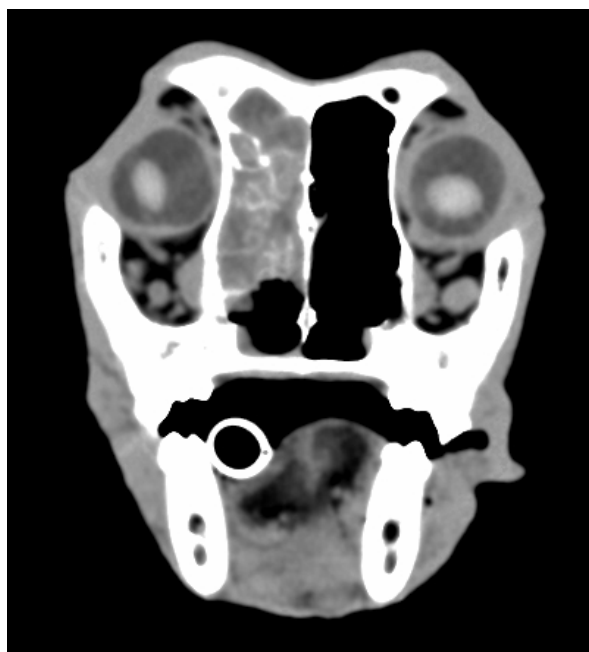


Abbildung 3-18: Tumorstadium III nach Adams et al. (2009), Patient Nr. 8 (Chondrosarkom), CT, Weichteilfenster, nach Kontrastmittelgabe

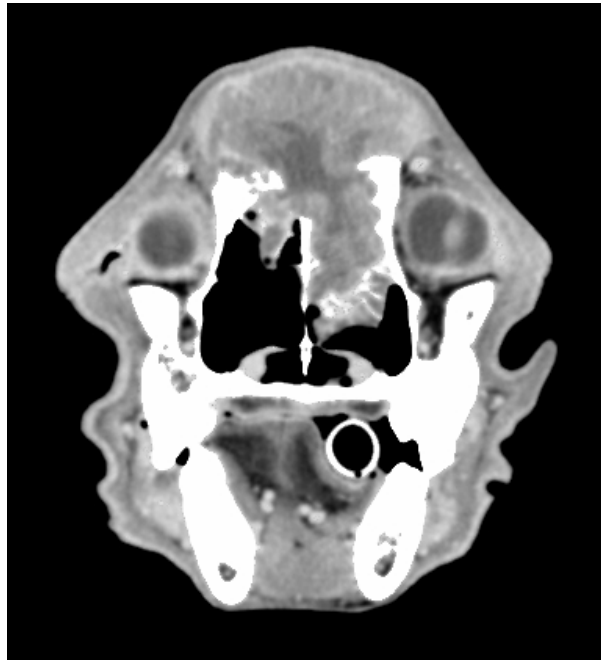
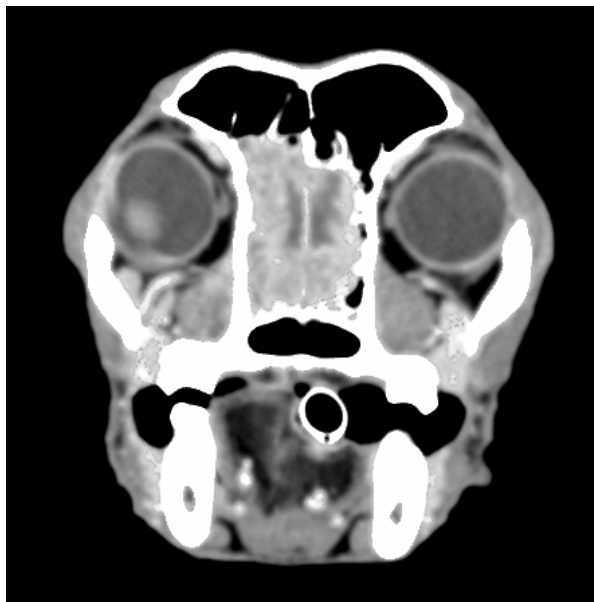


Abbildung 3-19: Tumorstadium IV nach Adams et al. (2009), Patient Nr. 11 (Plattenepithelkarzinom), CT, Weichteilfenster, nach Kontrastmittelgabe



Die Tumorausdehnung umfasste bei 92% der Fälle (23/25) kraniokaudale Bereiche der Nasenhöhle, während sie bei 8% (2/25) lediglich kaudale Areale einnahm. Einen ausschließlich kranial in der Nasenhöhle gelegenen Tumor wies keiner der Patienten auf.

Bei Erstvorstellung litten bereits 44% der Patienten (n=11) unter einem bilateralen Tumor. Eine Verschattung des Sinus frontalis lag bei 17 Patienten (68%) unilateral und bei fünf Patienten (20%) bilateral vor, so dass insgesamt bei 88% der Patienten eine Beteiligung der Stirnhöhle(n) festgestellt werden konnte.

3.2.2.5 Therapiedurchführung

Alle 25 Patienten konnten die hypofraktionierte Bestrahlungstherapie in Form von drei Einzelfractionen ohne anästhetische, therapeutische oder anderweitige Zwischenfälle abschließen. Eine initiale Meloxicam-Monotherapie über median 14,5 Tage (Streubreite 6-26 Tage) konnte bei 24 Hunden durchgeführt werden, die während und nach der Bestrahlungstherapie bei allen 25 Studienpatienten fortgeführt wurde.

Zwei Patienten entwickelten im Laufe der Meloxicam-Gabe temporären, akuten Durchfall ohne das Auftreten von Meläna oder Hämatochezie, so dass vorübergehend ein Absetzen des Präparates erfolgte. Der Durchfall besserte sich bei beiden Patienten innerhalb weniger Tage. Bei einem Patienten traten auch nach Wiedereinsetzen von Meloxicam kein Durchfall oder anderweitige Probleme mehr auf. Der zweite Hund, Patient Nr. 6, entwickelte jedoch in den folgenden Tagen ein zunehmend schlechter werdendes Allgemeinbefinden mit dem Nachweis einer Leukozytose (24 G/l) mit Neutrophilie, Hypoalbuminämie (1,9 g/dl) sowie erniedrigtem Harnstoff (7,9 mg/dl) und wurde nach 80 Tagen auf Besitzerwunsch durch den Haustierarzt euthanasiert. Die initiale Blutuntersuchung wurde bei diesem Patienten durch den Haustierarzt eingeleitet und uns erst mehrere Wochen nach Therapiebeginn im Detail übermittelt. Der Patient wurde mit einer unauffälligen Blutuntersuchung überwiesen, wobei sich im Nachhinein zeigte, dass bereits initial eine geringgradige Hypoalbuminämie (2,6 g/dl) vorlag. Alle anderen Parameter lagen in der Norm. Da die Nebenwirkungen nach etwa 2,5 Monaten auftraten, wurden diese aus logistischen Gründen vollständig durch den Haustierarzt untersucht und behandelt. Daher ist nur schwer abzuschätzen, ob für diese Symptomatik der Einsatz

des Meloxicams verantwortlich war oder ob eine Begleiterkrankung vorlag. Weiterführende Untersuchungen oder eine Sektion erfolgten nicht.

Im Rahmen der Bestrahlungstherapie musste bei allen 25 Patienten das kraniale Riechhirn mit in das Bestrahlungsfeld einbezogen werden, da die Tumoren weit kaudal lokalisiert waren. Im Gegensatz dazu war das Ausmaß einer notwendigen Involvierung okularer Strukturen individuell verschieden. Bei zwei Patienten lagen aufgrund einer bilateralen Ausdehnung des Tumors beide Augen im Bestrahlungsfeld (bei Patient Nr. 22 vollständig, bei Patient Nr. 5 partiell), während bei 21 Patienten lediglich ein Auge einbezogen werden musste. Bei weiteren zwei Patienten (Nr. 2 und Nr. 21) konnten die Augen innerhalb des Bestrahlungsfeldes vollständig mittels eines Bleiblocks geschont werden. Eine Aufhebung des „Skin sparing“-Effekts der ⁶⁰Cobaltstrahlung musste bei sieben Patienten aufgrund des Vorliegens von perkutanen Biopsiestellen (n=2) oder subkutaner Ausdehnungen der Tumoren (n=5) erfolgen. Zur Optimierung der Dosisverteilung wurde bei zehn Patienten ein Bleikeil von 30-45° eingesetzt. Die regionalen Lymphknoten wurden aus bestrahlungstechnischen Gründen nicht in die Therapie einbezogen. Eine Übersicht über die individuellen Bestrahlungsfelder ist in **Tabelle 3-24** dargestellt.

Tabelle 3-24: Detaillierte Darstellung von relevanten Aspekten bezüglich der individuellen Bestrahlungsfelder aller Studienpatienten (n=25)

Patienten Nr.	Bestrahlungsfelder	Block	Bolus	Keil
1	D, LL	A + SF: R, L 0,5cm	-	30°
2	D, RL	A: R + L	BS	-
3	D, RL	A: L, R 1,5cm	BS	-
4	D, LL	NS; A + SF: R	NR	-
5	D, RL	A: L 1,5cm, R 1cm	NR	-
6	D, RL	A: R 0,5cm; NS	NR	-
7	D, LL	A: R	-	-
8	D, RL	A: L, R 1,5cm	NR	45°
9	D, RL, LL	A: L, R 0,5cm	NR	-
10	D, RL	A: R 1cm	-	30°
11	D, RL, LL	A: R, L 0,5cm	-	-
12	D, RL, LL	A: L + R 0,5cm; NS	-	-
13	D, LL	A: R + L 1cm	-	-
14	D, LL	A: R, L 0,5cm; NS	-	-
15	D, RL	A: L	-	-
16	D, RL	A: L + R 2,5cm	-	-
17	D, LL	A: R + L 1,5cm; NS	-	30°
18	D, LL	A: R + L 1,5cm	-	-
19	D, LL	A: R	-	-
20	D, LL	A: L 2cm	-	30°
21	D, LL	A: L + R	-	30°
22	D, LL	-	-	30°
23	D, LL	A: L 2cm	-	30°
24	D, LL	A: L 1,5cm; NS	-	30°
25	D, LL	A: R, L 1cm; NS	-	30°

D = dorsal, LL = links lateral; RL = rechts lateral; A = Auge; SF = Sinus frontalis; NS = Nasenspiegel; L = links; R = rechts; BS = Biopsiestelle; NR = Nasenrücken

Bei drei Patienten wurde eine Nachbestrahlung nach 268 Tagen (Patient Nr. 2), 198 Tagen (Patient Nr. 9) oder 570 Tagen (Patient Nr. 15) durchgeführt.

Patient Nr. 2, der unter einem Undifferenzierten Karzinom litt, zeigte 207 Tage nach Therapiebeginn eine Symptomprogression und wurde daher mit zwei Fraktionen á 6 Gy (Gesamtbestrahlungsdosis 12 Gy) nachbestrahlt. Dies führte zu einer kurzzeitigen Besserung der Symptomatik, jedoch musste der Patient bereits 58 Tage später aufgrund starker Epistaxis und einem schlechten Allgemeinbefinden euthanasiert werden.

Patient Nr. 9, der unter einem weit fortgeschrittenen Chondrosarkom litt, zeigte 149 Tage nach Therapiebeginn eine Verschlechterung der klinischen Symptomatik, so

dass eine erneute Bestrahlung mit zwei Fraktionen á 8 Gy (Gesamtbestrahlungsdosis 16 Gy) durchgeführt wurde. Dies führte zu einer temporären Verbesserung der Symptomatik, jedoch kam es durch den vorliegenden Durchbruch in die Unterhaut des Nasenrückens weiterhin zu unregelmäßigen Blutungen und einem progressiven Tumorwachstum. Da die empfohlene Euthanasie des Patienten von Besitzerseite abgelehnt wurde, verstarb der Hund 159 Tage nach der zweiten Bestrahlung eines natürlichen Todes.

Patient Nr. 15 hingegen, der ebenfalls unter einem Undifferenzierten Karzinom litt, zeigte erst 545 Tage nach Therapiebeginn erneut Symptome seines Nasentumors. Daher wurde nach 570 Tagen eine Nachbestrahlung mit drei Fraktionen á 6 Gy (Gesamtbestrahlungsdosis 18 Gy) durchgeführt, die erneut zu einer deutlichen klinischen Besserung führte. Der Patient ist weiterhin, 639 Tage nach Therapiebeginn, am Leben.

3.2.2.6 Nachkontrollen

Eine erste Nachkontrolle erfolgte zum Zeitpunkt der Erstbestrahlung nach Initiierung der Monotherapie mit Meloxicam, in deren Rahmen 24 Patienten klinisch und computertomographisch untersucht wurden. Patient Nr. 20, der aufgrund einer vollständig vorliegenden Diagnostik unmittelbar zur Erstbestrahlung überwiesen wurde, erhielt aufgrund eines Missverständnisses kein Meloxicam vor der Vorstellung zur ersten Bestrahlungstherapie, so dass keine Beurteilung einer Meloxicam-Monotherapie erfolgen konnte. Alle 25 Patienten konnten nachfolgend zum Zeitpunkt der dritten Bestrahlung kontrolliert werden. Anschließend wurde zu Verlaufskontrollen in ungefähr 3-monatigen Abständen geraten, die jedoch nicht bei allen Patienten, teils aufgrund des Patiententodes, teils aufgrund mangelnder Besitzerbereitschaft, durchgeführt wurden. In speziellen Fällen, meist bei Symptomverschlechterung, erfolgten engmaschigere Kontrollen (beispielsweise einen Monat nach Bestrahlungsabschluss bei Patient Nr. 21 aufgrund einer progressiven klinischen Symptomatik). Eine Übersicht über die individuell durchgeführten Nachkontrollen nach Beendigung der Strahlentherapie ist in **Tabelle 3-25** dargestellt.

Tabelle 3-25: Individuell durchgeführte Nachkontrollen nach Abschluss der Bestrahlungstherapie bei allen Studienpatienten (n=25)

Patienten Nr.	Nachkontrolle 1 (2-4 Mo)	Nachkontrolle 2 (6 Mo)	Nachkontrolle 3 (8-9 Mo)	Nachkontrolle 4 (15 Mo)	Nachkontrolle 5 (18 Mo)
1	x	x	verstorben		
2	x	#	x	verstorben	
3	verstorben				
4	#	#	verstorben		
5	#	verstorben			
6	verstorben				
7	verstorben				
8	x	#	verstorben		
9	#	x	#	verstorben	
10	x	verstorben			
11	#	verstorben			
12	x	verstorben			
13	x	verstorben			
14	x	x	verstorben		
15	#	x	x	x	x
16	#	x	verstorben		
17	#	#	verstorben		
18	verstorben				
19	#	#	verstorben		
20	x	x	#	#	
21	1 Monat: x	x	x		
22	x	x	verstorben		
23	x	x	x		
24	x	#	#		
25	x	x	#	verstorben	

x = durchgeführt; # = nicht durchgeführt; Mo = Monate

Eine detaillierte Übersicht über die Entwicklung des Hauptsymptoms „Nasenausfluss“ ist in **Tabelle 3-28** gegeben. Zusammenfassungen der Therapiewirkung auf das Tumorstadium und das Tumorstadium sind aus **Tabelle 3-29** und **Tabelle 3-30** zu entnehmen.

Nachkontrolle nach initialer Monotherapie mit Meloxicam

Vor Beginn der Strahlentherapie erhielten 24 Patienten einmal täglich Meloxicam (Metacam® 1,5 mg/ml Suspension zum Eingeben für Hunde) oral in der empfohlenen Dosierung von 0,1 mg/kg KG (initial 0,2 mg/kg KG subkutan oder oral). Von den 24 behandelten Patienten erhielten neun Hunde (38%) Meloxicam über etwa drei Wochen vor Bestrahlungsbeginn (17 bis 26 Tage). Bei weiteren neun Patienten umfasste die Meloxicam-Monotherapie etwa zwei Wochen (12 bis 15 Tage) und bei

sechs Patienten (25%) etwa eine Woche (6 bis 10 Tage). Die 24 Patienten erhielten Meloxicam für median 14,5 Tage (Streubreite 6-26 Tage) vor Beginn der Bestrahlungstherapie und somit der ersten Kontrolluntersuchung.

Klinische Symptomatik

Nach initialer Monotherapie mit Meloxicam konnte bei 75% der Patienten (n=18) eine Verbesserung der klinischen Symptomatik festgestellt werden, die häufig mit einem, subjektiv durch die Besitzer beurteilten, verbesserten Allgemeinbefinden assoziiert war. Das Allgemeinbefinden stellte sich bei allen Patienten als ungestört dar. Bei fünf Patienten (21%) lag ein stabiler Zustand der klinischen Symptomatik vor, während ein Hund trotz 17-tägiger Meloxicam-Gabe unter einer progressiven klinischen Symptomatik litt. Patienten, die eine Symptomverbesserung zeigten, gehörten unterschiedlichen Tumorstadien an (vier Hunde im Stadium I, fünf Hunde im Stadium III und sieben Hunde im Stadium IV). Damit zeigten 57% der Hunde im Stadium I, 50% im Stadium III und 87,5% im Stadium IV eine Symptomverbesserung. Am häufigsten stellte sich eine Reduktion des Nasenausflusses (n=13; 54%) ein, so dass vier Patienten zum Zeitpunkt der ersten Nachkontrolle keinen Nasenausfluss mehr aufwiesen. Bei persistierendem Nasenausfluss stellte sich häufig eine Änderung des Charakters ein, insbesondere hinsichtlich eines Übergangs hämorrhagischer und purulenter Anteile zu vermehrt serösem Nasenausfluss (n=11; 46%). Details zur Wirkung auf die anderen klinischen Symptome, wie Niesen, Röcheln oder Würgen, sind **Tabelle 10-4** im Anhang zu entnehmen. Insbesondere stellte sich hierbei ein Rückgang des Niesens ein, welcher bei 15 Patienten (63%) zum Zeitpunkt der ersten Kontrolle geringer als initial ausgeprägt war.

Nebenwirkungen der Meloxicam-Gabe konnten bei keinem Patienten festgestellt werden.

Die individuelle Dauer der Meloxicam-Gabe vor Bestrahlungsbeginn und deren Auswirkung auf die klinische Symptomatik sind im Anhang in **Tabelle 10-4** dargestellt.

Computertomographische Kontrolle

Im Rahmen der computertomographischen Untersuchung der Therapiewirkung auf das Tumervolumen nach initialer Monotherapie mit Meloxicam waren folgende Befunde zu erheben:

Zwei Patienten zeigten eine geringgradige partielle Remission um 12% bzw. 13% des initialen Tumervolumens, zwei Patienten eine mittelgradige partielle Remission (um 40% bzw. 42%) und ein Patient eine hochgradige partielle Remission (um 75%). Fünf Patienten entwickelten trotz Therapie eine Progression des Tumors, während 14 Patienten ein stabiles Tumervolumen aufwiesen. Die individuellen Resultate sowie eine Gegenüberstellung zur Dauer der Meloxicam-Gabe und der COX-2 Expression (Verteilungsscore und COX-2 Score) des Tumors, sind in **Tabelle 3-26** dargestellt. Bei drei Patienten musste aufgrund einer inadäquaten Qualität oder eines ungeeigneten Dateiformats auf eine zweidimensionale Beurteilung des Tumervolumens zurückgegriffen werden, bei der die Veränderung der Gesamttumurlänge und der Haupttumormasse beurteilt wurde (siehe Kapitel 3.1.2.9). Eine Änderung der Stadieneinteilung war bei keinem der Patienten nachzuweisen, ebenso wenig konnten Hinweise auf Metastasen (mit Ausnahme des bereits initial vorhandenen pulmonalen Rundherds bei Patient Nr. 5) festgestellt werden.

Tabelle 3-26: Auswirkung der Meloxicam-Monotherapie auf das Tumervolumen innerhalb eines Zeitraums von 6-26 Tagen sowie Vergleich zur COX-2 Expression der Tumoren der Studienpatienten (n=24)

Patienten Nr.	Dauer der initialen Meloxicam-Gabe (Tage)	Tumervolumen/-maße initial in Voxeln bzw. mm	Tumervolumen/-maße vor Bestrahlung in Voxeln bzw. mm (prozentualer Anteil im Vergleich zu initialem Volumen)	COX-2 Verteilungs-Score	COX-2 Score
1	21	47463	49645 (105%)	3	6
2	14	24510	21573 (88%)	4	4
3	6	53047	52514 (99%)	4	8
4	21	27917	27280 (98%)	2	2
5	18	32366	30921 (96%)	4	4
6	17	34354	35431 (103%)	2	6
7	14	50386	50891 (101%)	1	nz
8	15	73324	113246 (154%)	1	nz
9	21	94419	128471 (136%)	1	nz
10	14	38156	115194 (302%)	2	4
11	9	32853	35947 (109%)	2	4
12	10	Gesamtlänge 56 mm; Hauptmasse 31.5x24 mm (Höhe Mol2) ^a	Gesamtlänge 52 mm; Hauptmasse 30x23 mm (92%) ^a	2	8
13	8	Gesamtlänge 65 mm; Hauptmasse 32x14.5 mm (Höhe Mol1) ^a	Gesamtlänge 64 mm; Hauptmasse 32x13.5 mm (96%) ^a	3	3
14	12	213889	123419 (58%)	5	20
15	8	64642	59818 (93%)	2	2
16	17	27058	23624 (87%)	4	8
17	9	48765	55017 (113%)	5	10
18	14	61648	77737 (126%)	3	3
19	21	10833	14931 (138%)	5	10
21	21	19471	18639 (96%)	1	10
22	15	70724	77757 (110%)	5	2
23	26	21078	5211 (25%)	2	10
24	12	45599	43727 (96%)	4	4
25	20	Gesamtlänge 110 mm; Hauptmasse 49x19,5 mm (Höhe Mol1) ^a	Gesamtlänge 74 mm; Hauptmasse 39x13 mm (60%) ^a	5	5

^a Remissionsbeurteilung anhand von zweidimensionalen Kriterien

Mol1/2 = erster/zweiter Molare Oberkiefer; nz = nicht zutreffend

Farbkodierung:

>10% Progression	11-30% Remission	31-50% Remission	>50% Remission
------------------	------------------	------------------	----------------

Nachkontrolle zum Zeitpunkt der letzten Bestrahlung

Klinische Symptomatik

Basierend auf dem in dieser Studie angewendeten Bestrahlungsprotokoll wurden alle 25 Patienten etwa zwei Wochen nach der Untersuchung zu Bestrahlungsbeginn erneut nachkontrolliert. Dabei zeigte sich bei 22 Patienten eine Änderung der klinischen Symptomatik (siehe **Tabelle 10-5** im Anhang). Eine Besserung im Vergleich zum Vorbefund zeigten 21 Hunde (84%), während drei Hunde eine Stagnation der Ausprägung und ein Patient eine Verschlechterung aufwiesen. Der Nasenausfluss war im Vergleich zum Vorbefund bei drei Patienten in partieller und bei sieben Patienten in kompletter Remission, so dass insgesamt elf Patienten (46%) keinen Nasenausfluss mehr zeigten.

Eine vollständige Remission der klinischen Symptomatik war bei Patient Nr. 23 festzustellen, der auch den deutlichsten Tumorrückgang bereits nach Monotherapie mit Meloxicam gezeigt hatte. Patient Nr. 9 zeigte Inappetenz und ein reduziertes Allgemeinbefinden aufgrund eines gastralen Fremdkörpers, der nach Diagnosestellung operativ entfernt wurde.

Computertomographische Kontrolle

Im Rahmen der computertomographischen Nachkontrolle unmittelbar nach Abschluss der hypofraktionierten Bestrahlung waren folgende Befunde hinsichtlich der Tumorausdehnung im Vergleich zum Vorbefund festzustellen:

Drei Patienten zeigten eine Tumorprogression um 21-62%, sieben einen stabilen Zustand und 15 Patienten (60%) eine partielle Remission. Eine geringgradige partielle Remission um 12-27% war bei sieben Patienten festzustellen, während ein Patient eine mittelgradige partielle Remission um 44% und sieben Patienten eine hochgradige partielle Remission um 51-84% aufwiesen. Details sind **Tabelle 3-29** zu entnehmen. Hinweise auf Metastasen lagen, abgesehen von Patient Nr. 5, bei keinem der Patienten vor.

Es konnte bei vier Patienten eine Abstufung des Tumorstadiums von Stadium III zu Stadium I (Patienten Nr. 1, 2 und 18) oder von Stadium IV zu Stadium I (Patient Nr. 14) festgestellt werden (siehe **Tabelle 3-30**).

Weitere Nachkontrollen

Insgesamt erfolgten bei 16 Patienten (64%) weitere klinische und computertomographische Nachkontrollen in Ergänzung zu den Kontrollen vor und unmittelbar nach der Bestrahlungstherapie. Diese fanden bei zwölf Hunden nach 2-3 Monaten (und bei einem weiteren Hund nach einem Monat), bei zehn Hunden nach ungefähr 6 Monaten, bei vier Hunden nach 8-9 Monaten und bei jeweils einem Patient nach 15 und 18 Monaten statt.

Kontrolle nach zwei bis drei Monaten

Klinische Symptomatik

Von zwölf Patienten, die nach zwei bis drei Monaten kontrolliert wurden, wiesen sieben eine Verbesserung, einer eine Stabilisierung und vier eine Verschlechterung der klinischen Symptomatik im Vergleich zum Vorbefund auf. Ein weiterer Patient wurde aufgrund einer deutlichen Tumorprogression während der Bestrahlungstherapie bereits nach einem Monat kontrolliert und zeigte zu dieser Zeit eine verbesserte Symptomatik mit vollständiger Remission des Nasenausflusses.

Das vorherrschende Symptom „Nasenausfluss“ befand sich zum Kontrolltermin im Vergleich zur vorherigen Kontrolle bei drei Patienten in kompletter und bei einem Patient in partieller Remission. Insgesamt litten acht der 13 kontrollierten Patienten nicht mehr unter Nasenausfluss. Vier Hunde wiesen bereits eine Progression auf, während fünf Hunde eine stabile Ausprägung des Nasenausflusses zeigten.

Zu diesem Kontrollzeitpunkt waren vier Patienten bereits aufgrund einer progressiven Symptomatik (n=3) oder anderweitiger Gründe (n=1) verstorben. Zwei Patienten (Nr. 10 und 12) wurden aufgrund einer progressiven Symptomatik bereits nach zwei Monaten klinisch und computertomographisch kontrolliert. Beide Patienten waren ebenfalls drei Monate nach Bestrahlungsabschluss nicht mehr am Leben.

Computertomographische Kontrolle

Das Tumorstadium war bei den Patienten, die zum Zeitpunkt der letzten Bestrahlung eine Abstufung des Tumorstadiums zu verzeichnen hatten und nun erneut kontrolliert wurden (n=3), wieder zum initialen Stadium fortgeschritten. Alle anderen vorgestellten Patienten wiesen ein stabiles Tumorstadium auf. Insgesamt zeigten zwei von 13 untersuchten Hunden ein progressives (um 31-165%), zwei ein stabiles

und neun ein Tumervolumen in partieller Remission. Letztere Gruppe setzte sich aus einem Patienten mit geringgradiger partieller Remission (um 18%), drei Patienten mit mittelgradiger partieller Remission (um 38-50%) und fünf Patienten mit hochgradiger partieller Remission (um 56-96%) zusammen.

Patient Nr. 8, der unter einem weit fortgeschrittenen Chondrosarkom litt, zeigte bei der 3-Monatskontrolle multiple weichteildichte, intrathorakale Verschattungen von bis zu 1,3 cm Durchmesser (siehe **Abbildung 3-20**). Auch dieser Patient wurde im Anschluss nicht mehr vorgestellt und wurde nach 227 Tagen aufgrund des progressiven Chondrosarkoms euthanasiert. Eine histologische Bestätigung als Tumormetastasen erfolgte nicht, da keine Sektion gewünscht wurde.

Abbildung 3-20: Intrathorakale, weichteildichte Verschattung (siehe Pfeil) bei Patient Nr. 8 drei Monate nach Bestrahlungsabschluss, CT, Lungenfenster, nach Kontrastmittelgabe



Alle anderen vorgestellten Patienten wiesen keine Hinweise auf eine Metastasierung auf.

Kontrolle nach sechs Monaten

Klinische Symptomatik

Nach sechs Monaten zeigte sich bei neun untersuchten Hunden eine stabile (n=4) oder progressive (n=5) klinische Symptomatik im Vergleich zu dem Befund bei Bestrahlungsabschluss. Bei einem Patient konnte eine Verbesserung der klinischen Symptomatik im Vergleich zum Vorbefund verzeichnet werden. Die Progression der Symptomatik spiegelte sich vorwiegend in der Ausprägung des Nasenausflusses im Vergleich zum Vorbefund wieder. Bei insgesamt sechs Patienten konnte eine komplette Remission des Nasenausflusses verzeichnet werden.

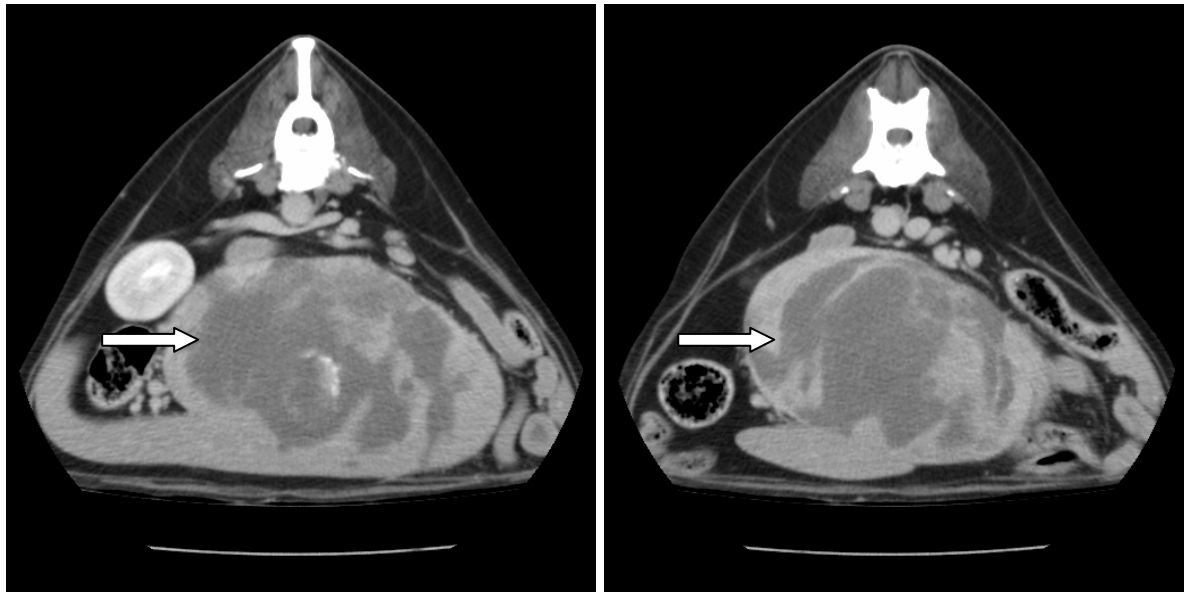
Computertomographische Kontrolle

Computertomographisch konnte bei fünf untersuchten Patienten ein stabiler (n=1) oder progressiver (n=4) Tumor dargestellt werden, während sich die anderen fünf Tumoren in partieller Remission befanden. Letztere zeigten entweder eine mittelgradige (n=1; um 44%) oder hochgradige (n=4; um 51-91%) partielle Remission.

Drei Patienten zeigten eine Progression von Tumorstadium I oder III zu Tumorstadium IV und wiesen somit erstmals eine Destruktion der kribriformen Platte und Invasion in das Gehirn auf. Patient Nr. 15 zeigte hingegen erstmals einen Rückgang von Tumorstadium III zu I. Hinweise auf Metastasen, insbesondere in den Lymphknoten oder der Lunge, lagen bei den zehn untersuchten Hunden nicht vor. Jedoch konnte bei Patient Nr. 25 als Zufallsbefund eine große gemischt hyper- und hypodense Umfangsvermehrung in der Milz festgestellt werden (siehe **Abbildung 3-21**). Diese war als hochgradig tumorverdächtig einzustufen, jedoch erschien der Zusammenhang zu dem in partieller Remission befindlichen intranasalen Adenokarzinoms unwahrscheinlich, da die Milz nicht zu den charakteristischen Metastasierungsorten zählt und die Umfangsvermehrung für eine Metastase ein ungewöhnlich großes Ausmaß einnahm. Daher erschien ein primärer Milztumor deutlich wahrscheinlicher, wobei aufgrund der Textur und der allgemeinen Inzidenz insbesondere ein Hämangiosarkom in Betracht gezogen wurde. Eine operative Behandlung wurde jedoch aufgrund der Nasentumor-Erkrankung und des hohen Alters des Hundes nicht gewünscht, so dass keine pathohistologische Zuordnung

möglich war. Der Patient wurde nach 354 Tagen aufgrund von Lungen- und Lebermetastasen einhergehend mit einem schlechten Allgemeinbefinden euthanasiert.

Abbildung 3-21: Milz-assoziierte Umfangsvermehrung (siehe Pfeile) sechs Monate nach Bestrahlungstherapie, Patient Nr. 25, CT, Weichteilfenster, nach Kontrastmittelgabe



Kontrolle nach acht bis neun Monaten

Klinische Symptomatik

Zum Zeitpunkt der Nachkontrolle acht bis neun Monate nach Bestrahlungstherapieabschluss waren 17 Patienten (68%) bereits verstorben bzw. euthanasiert worden. Vier Patienten wurden zu einer Nachkontrolle vorgestellt, wovon zwei Patienten eine Progression des Nasenausflusses im Vergleich zum Vorbefund zeigten, während die anderen zwei Patienten keinen Nasenausfluss und damit eine stabile Symptomatik aufwiesen.

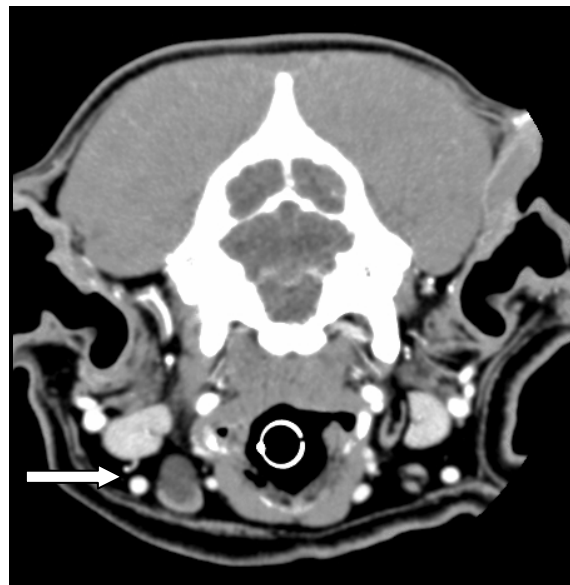
Computertomographische Kontrolle

Mittels der computertomographischen Untersuchung konnte bei zwei Patienten eine mittelgradige partielle Remission (um 42-47%) und bei einem weiteren Patienten eine hochgradige partielle Remission (um 91%) nachgewiesen werden. Ein Patient

zeigte ein progressives Tumervolumen, welches sich im Vergleich zum Bestrahlungsbeginn verdoppelt hatte.

Das Tumorstadium war im Vergleich zum initialen Befund bei zwei Patienten stabil und bei jeweils einem Patient fortgeschritten bzw. verringert. Bei Beurteilung der regionalen Lymphknoten fiel bei Patient Nr. 23, der seit Therapiebeginn nur noch rudimentäre Tumorresiduen aufwies, eine hypodense Vergrößerung des ipsilateralen mandibulären Lymphknotens auf (siehe **Abbildung 3-22**). Im Rahmen einer Feinnadelaspiration stellte sich diese Vergrößerung als zystische Veränderung dar, in der zytologisch keine Tumorzellen gefunden werden konnten. Daher wurde der Lymphknoten nicht operativ entfernt, sondern weiterhin beobachtet und zytologisch kontrolliert.

Abbildung 3-22: Hypodens vergrößerter linker mandibulärer Lymphknoten (siehe Pfeil), Patient Nr. 23, CT, Weichteilfenster, nach Kontrastmittelgabe



Kontrolle nach zwölf Monaten

Zwölf Monate nach Therapiebeginn wurde bei keinem der sechs noch lebenden Patienten eine Nachkontrolle durchgeführt.

Kontrolle nach 15 und 18 Monaten

Patient Nr. 15 wurde nach 15 und 18 Monaten zu einer Nachkontrolle vorgestellt.

Klinische Symptomatik

Der Nasenausfluss stellte sich seit der letzten Untersuchung neun Monate nach Therapieabschluss zunächst stabil, dann jedoch zunehmend progressiv dar. Das Allgemeinbefinden war weiterhin ungestört und es lagen keine Anzeichen für Nebenwirkungen der Meloxicam-Therapie vor.

Computertomographische Kontrolle

Computertomographisch zeigte dieser Patient mit 51% bzw. 42% Tumorrückgang eine partielle Remission, womit er weiterhin dem Stadium I zugeordnet werden konnte. Hinweise auf eine Metastasierung lagen nicht vor. Aufgrund einer insgesamt langsam progressiven Symptomatik wurde dennoch im Anschluss eine Nachbestrahlung des intranasalen Karzinoms (3 Fraktionen á 6 Gy) durchgeführt.

3.2.2.6.1 Überblick in Bezug auf die klinische Symptomatik

Eine Übersicht über die Therapiewirkung auf die klinische Symptomatik nach einer Monotherapie mit Meloxicam ist in **Tabelle 10-4** im Anhang gegeben. Die klinische Symptomatik zum Zeitpunkt der letzten Bestrahlung ist aus **Tabelle 10-5** im Anhang zu entnehmen, während eine Zusammenfassung der Therapiewirkung nach Abschluss der Bestrahlung in **Tabelle 3-27** zu finden ist.

Tabelle 3-27: Klinische Symptomveränderung im Vergleich zum vorhergehenden Befund im Rahmen der posttherapeutisch durchgeführten Nachkontrollen

Patienten Nr.	Nachkontrolle 1 (2-3 Mo)	Nachkontrolle 2 (6 Mo)	Nachkontrolle 3 (8-9 Mo)	Nachkontrolle 4 (15 Mo)	Nachkontrolle 5 (18 Mo)
1	stabil	-	verstorben		
2	-		-	verstorben	
3	verstorben				
4			verstorben		
5		verstorben			
6	verstorben				
7	verstorben				
8	-		verstorben		
9		-		verstorben	
10	-	verstorben			
11		verstorben			
12	-	verstorben			
13	+	verstorben			
14	+	-	verstorben		
15		+	stabil	-	-
16		-	verstorben		
17			verstorben		
18	verstorben				
19			verstorben		
20	+	stabil			
21	1 Monat: +	stabil	stabil		
22	+	-	verstorben		
23	+	stabil	stabil		
24	+				
25	+	stabil		verstorben	

Mo = Monate
Farbkodierung: Symptomveränderung
+ = Verbesserung - = Verschlechterung

Über den gesamten Studienzeitrahmen trat eine klinische Symptomverbesserung bei 24 Patienten (96%) ein, lediglich Patient Nr. 9 zeigte nach einer anfänglichen Stabilisierung der Symptomatik eine Progression innerhalb von sechs Monaten nach Bestrahlungsende. Eine klinische Symptomverbesserung trat dabei bei 75% (18 von 24) der Patienten bereits nach der Meloxicam-Monotherapie ein, während zum Bestrahlungsende 84% (21 von 25) der Patienten eine Verbesserung aufwiesen. Die Progression der klinischen Befunde trat meist innerhalb der ersten Monate nach Bestrahlungsabschluss auf, so dass nach drei Monaten ein Drittel und nach sechs Monaten die Hälfte der untersuchten Patienten unter einer progressiven klinischen Symptomatik litten.

Qualitativ war häufig eine Reduktion hämorrhagischer Anteile im Nasenausfluss (bei 52% der Hunde vor Bestrahlungsbeginn und bei 69% zum Bestrahlungsende) festzustellen. Quantitativ war bei 58% der Patienten vor Bestrahlungsbeginn und bei 92% zum Bestrahlungsende eine Reduktion des Nasenausflusses festzustellen. Zur Zeit des Bestrahlungsabschlusses war ein Patient bereits symptomfrei und blieb dies über den gesamten nachfolgenden Kontrollzeitraum von 398 Tagen.

Eine vollständige Reduktion des initial vorhandenen Nasenausflusses wiesen vier bzw. elf (von 24) Patienten vor und nach der Bestrahlungstherapie sowie acht (von 13) bzw. sechs (von 10) Patienten drei und sechs Monate nach Bestrahlungsabschluss auf.

Eine detaillierte Zusammenfassung bezüglich der Änderung des Hauptsymptoms „Nasenausfluss“ zu Zeiten der individuellen Nachkontrollen ist in **Tabelle 3-28** dargestellt.

Tabelle 3-28: Änderung des Nasenausflusses zu den jeweiligen Kontrollzeitpunkten im Vergleich zum vorherigen Befund innerhalb der Studienpatienten (n=25)

Patienten Nr.	Initial	Klinisches Hauptsymptom: Nasenausfluss						
		Nachkontrolle erste Bestrahlung	Nachkontrolle letzte Bestrahlung	Nachkontrolle 1 (2-3 Monate)	Nachkontrolle 2 (6 Monate)	Nachkontrolle 3 (8-9 Monate)	Nachkontrolle 4 (15 Monate)	Nachkontrolle 5 (18 Monate)
1	UL ++ PH, temp. E	UL + S	B + SH	B + S	B ++ SH	verstorben		
2	UR + PH	UR + P	kein	kein	B ++ H	B +++ PH, temp. E	verstorben	
3	UR ++ PH	UR + PH	B + S	verstorben				
4	UL ++ SH	UL + SH	UL + P			verstorben		
5	UR ++ PH	kein	kein		verstorben			
6	UR ++ PH	UR + E	kein	verstorben				
7	UL ++ PH	UL ++ S	B ++ S	verstorben				
8	UR + PH	UR + P	kein	UR + SH		verstorben		
9	UL + SH, temp. E	UL + S	UL + S		kein		verstorben	
10	UR ++ PH	UR + SH	UR + S	UR ++ SH	verstorben			
11	UL ++ PH	UL + S, temp. E	B + S		verstorben			
12	UR + S	kein	kein	kein	verstorben			
13	B ++ PH	B + P	B + P	B ++ PH	verstorben			
14	UR + E	kein	kein	kein	UL + P	verstorben		
15	B +++ PH	B ++ PH	UL ++ PH		kein	UL + P	UL + P	UL + PH
16	UR ++ E	UR + S	UR + S		UR ++ PH	verstorben		
17	UL ++ PH	UL + P	kein			verstorben		
18	UL ++ PH	UL ++ E	UL + S	verstorben				
19	UL ++ PH	UL ++ PH	kein			verstorben		

Tabelle wird fortgesetzt

Patienten Nr.	Initial	Klinisches Hauptsymptom: Nasenausfluss													
		Nachkontrolle erste Bestrahlung		Nachkontrolle letzte Bestrahlung		Nachkontrolle 1 (2-3 Monate)		Nachkontrolle 2 (6 Monate)		Nachkontrolle 3 (8-9 Monate)		Nachkontrolle 4 (15 Monate)		Nachkontrolle 5 (18 Monate)	
20	nz	UL + PH		kein		kein		kein		kein		kein		kein	
21	UL ++ PH, temp. E	UL + P		UL ++ P		1 Monat: kein		kein		kein		kein		kein	
22	kein	kein		B + S		kein		UL + S		verstorben		verstorben		verstorben	
23	UL ++ SH	kein		kein		kein		kein		kein		kein		kein	
24	UL + SH	UL + SH		UL + SH		kein		kein		kein		kein		kein	
25	B + S	B + S		kein		UL + S		kein		kein		verstorben		verstorben	
<p>UL = unilateral links; UR = unilateral rechts; B = bilateral; + = geringgradig; ++ = mittelgradig; +++ = hochgradig; P = purulent; PH = purulent-hämorrhagisch; S = serös; SH = serös-hämorrhagisch; H = hämorrhagisch; E = Epistaxis; NA = Nasenausfluss; temp. = temporär Farbkodierung: Änderung der klinischen Symptomatik im Vergleich zum vorhergehenden Befund:</p>															
Komplette Remission				Partielle Remission				Stabil				Progression			

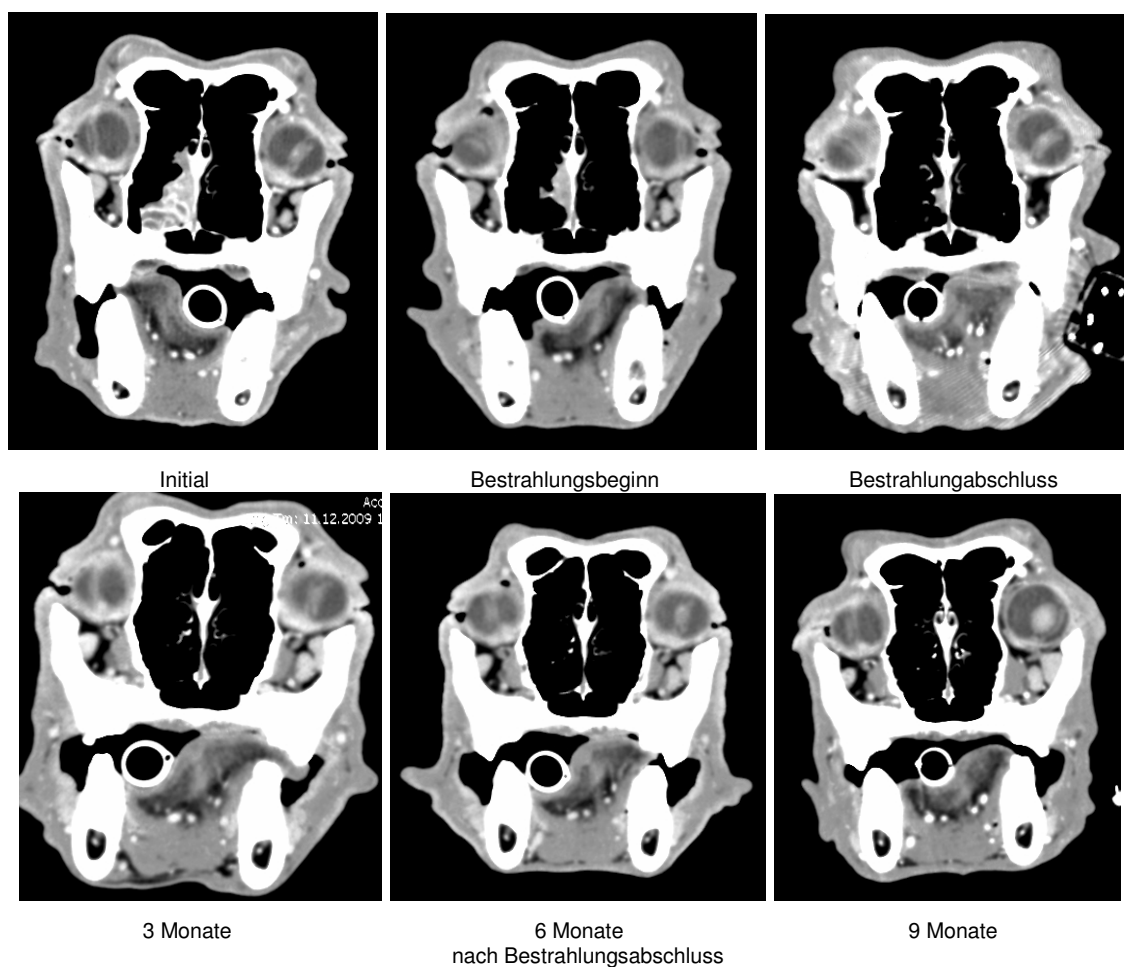
3.2.2.7 Überblick in Bezug auf das Tumorzvolumen

Das Tumorzvolumen zeigte insgesamt bei 17 Patienten (68%) eine partielle Remission, so dass bei zwei Patienten nur noch 4% bzw. 9% des Tumorzvolumens zu Bestrahlungsbeginn vorlagen. Eine Remission trat meist erst nach Durchführung der Bestrahlungstherapie ein, jedoch zeigten 5 von 24 Patienten (21%) bereits nach etwa 2-wöchiger Monotherapie mit Meloxicam einen Rückgang des Tumorzvolumens. Von den nach drei und sechs Monaten kontrollierten Hunden konnte bei 9 von 13 (69%) bzw. 5 von 10 (50%) eine partielle Remission verzeichnet werden. Bei zwei Patienten trat während der Bestrahlungstherapie zunächst eine Progression des Tumors ein, wobei sich nachfolgend bei der 3-Monatskontrolle eine deutliche Remission auf 4% bzw. 44% des Volumens vor Bestrahlungsbeginn zeigte.

Eine Progression des Tumorzvolumens konnte insgesamt bei 13 Patienten im Rahmen der Nachkontrollen evaluiert werden, wobei diese bei fünf Patienten zum Zeitpunkt der ersten Bestrahlung nachzuweisen war. Letztere fünf Patienten wiesen jedoch zum Zeitpunkt der letzten Bestrahlung bereits eine Stabilisierung bzw. partielle Remission des Tumorzvolumens auf bis zu 44% auf. Lediglich zwei Patienten verzeichneten bei allen durchgeführten Kontrollen einen stabilen Zustand.

In **Abbildung 3-23** ist anhand computertomographischer Aufnahmen von Patient Nr. 23 das Volumen der Haupttumormasse über einen Zeitraum von Therapiebeginn bis neun Monate nach Bestrahlungsabschluss demonstriert. Bei diesem Patienten zeigte sich bereits nach der Monotherapie mit Meloxicam eine Reduktion der Tumormasse um 75%, die nach Durchführung der hypofraktionierten Bestrahlung noch intensiviert wurde und über neun Monate bei 9-15% des initialen Volumens stagnierte. In den Aufnahmen ist zudem ersichtlich, dass dieser Tumor bereits initial ein relativ geringes Volumen aufwies und daher bereits in einem frühen Stadium diagnostiziert wurde.

Abbildung 3-23: Therapiewirkung auf ein Undifferenziertes Karzinom im Tumorstadium I (Patient Nr. 23) im Bereich der Haupttumormasse, CT, Weichteilfenster, nach Kontrastmittelgabe



Die individuellen Tumervolumina aller Studienpatienten zu den jeweiligen Kontrollzeitpunkten sowie deren Veränderung im Studienverlauf sind in **Tabelle 3-29** dargestellt.

Tabelle 3-29: Individuelle Tumorumfänge (in Voxeln) aller Studienpatienten (n=25) bei Bestrahlungsbeginn sowie prozentualer Vergleich mit nachfolgend evaluierten Volumina

Patienten Nr.	Vor Bestrahlung	Nach Bestrahlung	Nachkontrolle 1 (2-3 Monate)	Nachkontrolle 2 (6 Monate)	Nachkontrolle 3 (8-9 Monate)	Nachkontrolle 4 (15 Monate)	Nachkontrolle 5 (18 Monate)
Tumorumfänge in Voxeln (prozentualer Anteil im Vergleich zum Tumorumfang vor Bestrahlung)							
1	49645	17475 (35%)	19237 (39%)	49982 (101%)	verstorben		
2	21573	8238 (38%)	10798 (50%)		43079 (200%)	verstorben	
3	52514	38537 (73%)	verstorben				
4	27280	23524 (86%)			verstorben		
5	30921	26831 (87%)		verstorben			
6	35431	17454 (49%)	verstorben				
7	50891	38381 (75%)	verstorben				
8	113246	63763 (56%)	135317 (119%)		verstorben		
9	128471	132333 (103%)		208281 (162%)		verstorben	
10	115194	117869 (102%)	95030 (82%)	verstorben			
11	35947	36432 (101%)		verstorben			
12	21813	22826 (105%)	28513 (131%)	verstorben			
13	23623	23552 (100%)	23188 (98%)	verstorben			
14	123419	54377 (44%)	76363 (62%)	195889 (159%)	verstorben		
15	59818	62445 (104%)		29294 (49%)	31619 (53%)	29067 (49%)	34607 (58%)
16	23624	11028 (47%)		46253 (196%)	verstorben		
17	55017	11007 (20%)			verstorben		
18	77737	62842 (81%)	verstorben				
19	14931	11480 (77%)			verstorben		
20	22483	19809 (88%)	1938 (9%)	1916 (9%)			
21	18639	30220 (162%)	49475 (265%) ^a	10518 (56%)	10781 (58%)		
22	77757	77201 (99%)	47951 (62%)	110477 (142%)	verstorben		
23	5211	848 (16%)	527 (10%)	766 (15%)	486 (9%)		
24	43727	52802 (121%)	1662 (4%)				
25	32428	42195 (130%)	14349 (44%)	12129 (37%)		verstorben	

^a Kontrolle einen Monat nach Bestrahlungsabschluss

Farbkodierung: Tumorumfang im Vergleich zum Volumen vor Bestrahlung

>50% Remission	31-50% Remission	11-30% Remission	Stabil	>10% Progression
----------------	------------------	------------------	--------	------------------

3.2.2.8 Überblick in Bezug auf das Tumorstadium

Zusammenfassungen bezüglich der individuellen Tumorstadien zu den jeweiligen Kontrollzeitpunkten sowie einer Beteiligung der Stirnhöhlen am Krankheitsprozess sind in **Tabelle 3-30** und **Tabelle 3-31** dargestellt.

Das Tumorstadium hat sich im Verlauf der Nachkontrollen bei sieben Patienten (28%) im Vergleich zum initialen Stadium verändert, wobei fünf Hunde (zunächst) eine Reduktion von Stadium III oder IV zu I zeigten, während vier Hunde (nachfolgend) einem höheren Stadium (Stadium IV statt I oder III) als initial zugeordnet werden mussten. Der Großteil der Studienpatienten (72%) zeigte trotz Veränderungen der Tumervolumina keine Änderung des Tumorstadiums.

Initial lag bei 21 von 24 Patienten (87%) eine Beteiligung der Stirnhöhlen unilateral (n=16) oder bilateral (n=5) vor, wobei meist mindestens eine Stirnhöhle vollständig involviert war (n=19, 90%). Patient Nr. 20, der erstmals zum Zeitpunkt der ersten Bestrahlung vorgestellt wurde, zeigte ebenfalls eine unilaterale, vollständige Verschattung der Stirnhöhle. Eine Reduktion der Stirnhöhlenbeteiligung mit vollständigem Rückgang der initialen Verschattung in der Computertomographie war vor Bestrahlungsbeginn und zum Bestrahlungsabschluss bei drei bzw. fünf Patienten festzustellen. Partiell war dies bei einem bzw. fünf Hunden nachweisbar. Drei bzw. fünf Patienten zeigten zur gleichen Zeit jedoch eine Progression der Stirnhöhlenbeteiligung. Der Anteil an Patienten mit einer reduzierten Stirnhöhlenbeteiligung stieg zum Zeitpunkt der 3-Monatskontrolle mit acht vollständigen und einem partiellen Rückgang bezogen auf 13 Patienten, die zu dieser Zeit zur Kontrolle vorgestellt wurden, an.

Tabelle 3-30: Stadieneinteilung der Tumoren zu den Nachkontrollzeitpunkten im Vergleich zum initialen Stadium innerhalb der Studienpatienten (n=25)

Patienten Nr.	Tumor- stadium initial	Tumor- stadium vor Bestrahlung	Tumor- stadium nach Bestrahlung	Tumor- stadium (2-4 Monate)	Tumor- stadium (6 Monate)	Tumor- stadium (8-9 Monate)	Tumor- stadium (15 Monate)	Tumor- stadium (18 Monate)
1	III	III	I	III	IV	verstorben		
2	III	III	I	III		IV	verstorben	
3	IV	IV	IV	verstorben				
4	III	III	III			verstorben		
5	IV	IV	IV		verstorben			
6	III	III	III	verstorben				
7	IV	IV	IV	verstorben				
8	III	III	III	III		verstorben		
9	III	III	III		IV		verstorben	
10	I	I	I	I	verstorben			
11	III	III	III		verstorben			
12	IV	IV	IV	IV	verstorben			
13	IV	IV	IV	IV	verstorben			
14	IV	IV	I	IV		verstorben		
15	III	III	III		I	I	I	I
16	I	I	I		IV	verstorben		
17	IV	IV	IV			verstorben		
18	III	III	I	verstorben				
19	IV	IV	IV			verstorben		
20		I	I	I				
21	I	I	I	I		I		
22	III	III	III	III		verstorben		
23	I	I	I	I		I		
24	I	I	I	I				
25	I	I	I	I			verstorben	

Farbkodierung: Tumorstadium im Vergleich zum initialen Stadium

Verringerung Stabil Erhöhung

Tabelle 3-31: Beteiligung der Stirnhöhlen (uni- oder bilateral sowie Anteil) am Krankheitsprozess zu den jeweiligen Kontrollzeitpunkten im Vergleich zum Initialbefund der Studienpatienten (n=25)

Patienten Nr.	initial	vor Bestrahlung	nach Bestrahlung	2-3 Monate	6 Monate	8-9 Monate	15 Monate	18 Monate
1	UL komplett	UL komplett	UL partiell	#	UL partiell	verstorben		
2	UR komplett	#	#	#		UR komplett	verstorben	
3	B (R komplett, L partiell)	B (R komplett, L partiell)	B (R komplett, L partiell)	verstorben				
4	UL komplett	UL komplett	UL komplett			verstorben		
5	B (R komplett, L partiell)	B komplett	B komplett		verstorben			
6	UR komplett	UR komplett	#	verstorben				
7	B (L komplett, R partiell)	B (L komplett, R partiell)	B (L komplett, R partiell)	verstorben				
8	B (R komplett, L partiell)	B (R komplett, L partiell)	B (R komplett, L partiell)	B (R komplett, L partiell)		verstorben		
9	B partiell	B partiell	B (L komplett, R partiell)		B komplett		verstorben	
10	#	UR partiell	UR komplett	UR partiell				
11	UL komplett	UL komplett	UL komplett		verstorben			
12	UL komplett	#	#	#	verstorben			
13	UL komplett	UL komplett	UL komplett	UL partiell	verstorben			
14	UL komplett	UL komplett	#	#	UL partiell	verstorben		
15	UR komplett	UR komplett	UR komplett		#	#	#	#
16	UR komplett	UR komplett	UR partiell		UR komplett	verstorben		
17	UL komplett	UL komplett	#			verstorben		
18	UL partiell	UL komplett	UL komplett	verstorben				
19	UL komplett	UL komplett	UL komplett			verstorben		
20		UL komplett	UL komplett	#	#			
21	#	#	UL partiell	UL komplett	#	#		
22	UL komplett	UL partiell	UL partiell	#	UL komplett	verstorben		
23	#	#	#	#	#	#		

Tabelle wird fortgesetzt

Patienten Nr.	initial	vor Bestrahlung	nach Bestrahlung	2-3 Monate	6 Monate	8-9 Monate	15 Monate	18 Monate
24	UL komplett	UL komplett	UL partiell	#				
25	UL komplett	#	UL partiell	#	#		verstorben	
B = bilateral; UR = unilateral rechts; UL = unilateral links; R = rechts; L = links; # = keine Beteiligung Farbkodierung: im Vergleich zum initialen Befund								
Kompletter Rückgang		Partieller Rückgang	Stabil	Progression				

3.2.2.8.1 Bestrahlungsnebenwirkungen

Da das Studiendesign nicht auf eine eigene engmaschige Kontrolle der Patienten ausgelegt wurde, wurden lediglich drei Patienten zwei bis vier Wochen nach der Bestrahlung in der Tierärztlichen Klinik für Kleintiere Hofheim vorgestellt. Aus diesem Grund liegen bezüglich des Auftretens akuter Nebenwirkungen nur sehr eingeschränkte Daten vor. Alle anderen Patienten wurden bei den jeweiligen Haustierärzten kontrolliert, so dass keine vergleichbare Datenbasis zur Beurteilung vorliegt. Details zu den festgestellten Nebenwirkungen sind **Tabelle 10-6** im Anhang zu entnehmen.

Akute Nebenwirkungen wurden bei 14 Patienten bekannt und umfassten meist eine Konjunktivitis (n=12), häufig vergesellschaftet mit einer Blepharitis, eine Dermatitis (n=8) und/oder Alopezie (n=7). Die akuten Hautveränderungen traten bevorzugt periokular auf. Bei jeweils einem Patienten trat eine Rhinitis bzw. Mukositis am Oberkiefer auf. Alle akuten Bestrahlungsnebenwirkungen heilten, teilweise nach medikamenteller Therapie, wieder vollständig ab.

Chronische Nebenwirkungen wurden bei 19 Patienten bekannt und umfassten insbesondere Hautveränderungen und okulare Nebenwirkungen.

Eine verminderte Tränenproduktion (n=11) stellte die häufigste chronische okulare Nebenwirkung dar und war bei sechs Patienten bereits zum Zeitpunkt der letzten Bestrahlung festzustellen. Die Reduktion der Tränenflüssigkeit war bei fünf Patienten geringgradig (Mittelwert 12,8 mm/min, Streubreite 10 bis 15 mm/min), lediglich Patient Nr. 19 zeigte die bereits initial vorgelegene mittelgradige Reduktion auf 8 mm/min beidseits. Die bei diesen Hunden durchgeführten Fluoreszeintests und/oder tonometrischen Untersuchungen erbrachten in allen Fällen unauffällige Befunde. Die Therapie erfolgte mit Tränenersatzstoffen, wie beispielsweise Polyacrylsäure¹⁹ oder Carbomer²⁰ mehrmals täglich durch Eingabe eines 0,5-1 cm langen Salbenstreifens in den Bindehautsack. Bei bereits bestehender Tränenminderproduktion unmittelbar nach Beendigung der Bestrahlungstherapie

¹⁹ Siccapos® Gel, URSAPHARM Arzneimittel GmbH, Germany

²⁰ Thilo Tears® Gel, Alcon Pharma GmbH, Germany

sowie teilweise auch prophylaktisch, erhielten die Patienten Cyclosporin A²¹ 2x täglich durch Eingabe eines 0,5-1 cm langen Salbenstreifens in den Bindehautsack.

In **Tabelle 10-7** im Anhang sind die individuellen Ergebnisse der durchgeführten Schirmer Tränentests dargestellt.

Patienten, die intern zu einer Nachkontrolle der Bestrahlungstherapie vorgestellt wurden und eine akute Konjunktivitis aufwiesen, erhielten zusätzlich zu der prophylaktischen Tränenersatztherapie eine prophylaktische lokale antibiotische Versorgung mittels einer Neomycin-Polymyxin-B-Bacitracin-haltigen Augensalbe²² (2-3x tägliche Eingabe eines 0,5-1 cm langen Salbenstreifens in den Bindehautsack) bis zur Abheilung der Symptomatik. Nachuntersuchungen wurden meist bei den jeweiligen Haustierärzten durchgeführt, die ebenfalls symptomatische lokale Therapien bei okularen Nebenwirkungen verordneten. Details zu den Präparaten sind nicht bekannt, umfassten aber ebenfalls lokale antibiotische Ophthalmologika, teilweise mit kortisonhaltigen Ergänzungen, sowie Tränenersatzstoffe.

Zum Zeitpunkt der 3-Monatskontrolle zeigten vier der neun kontrollierten Hunde eine verminderte Tränenproduktion, die bei drei Patienten mittelgradig (Mittelwert 7,5 mm/min, Streubreite 7-8 mm/min) sowie bei einem Patienten hochgradig (0 mm/min) ausgeprägt war. Aufgrund einer regelmäßigen, oftmals prophylaktischen Anwendung der feuchtigkeitsspendenden Augensalben durch die Patientenbesitzer wies keiner dieser Patienten eine Keratokonjunktivitis auf.

Bei der 6-Monatskontrolle zeigten sechs der sieben kontrollierten Patienten eine verminderte Tränenproduktion. Diese war bei vier Augen mittelgradig ausgeprägt (Mittelwert 6,3 mm/min, Streubreite 5-8 mm/min) und bei sieben Augen geringgradig (Mittelwert 13 mm/min, Streubreite 10-15 mm/min). Alle vier Patienten, die nach 8-9 Monaten kontrolliert wurden, wiesen zu dieser Zeit eine Tränenflüssigkeitsreduktion auf. Diese war entweder geringgradig (14-15 mm/min; n=3) oder hochgradig vermindert (<5 mm/min; n=2).

Chronische Hautreaktionen äußerten sich in Form einer Reduktion der Felldichte oder einem verlangsamten Fellwachstum (n=7), Leukotrichie (n=6), Lichenifikationen (n=2), einer Hyperpigmentation (n=2) oder pergamentartiger Haut (n=1). Sechs Patienten, bei denen aufgrund der Tumorausdehnung der Nasenspiegel mitbestrahlt

²¹ Optimune®, Intervet/ Schering-Plough Animal Health, Germany

²² Polyspectran® Salbe 5g, Alcon Pharma GmbH, Germany

wurde, wiesen eine Trockenheit der dortigen kutanen Schleimhaut auf. Diese dermalen Nebenwirkungen sind beispielhaft in **Abbildung 3-24**, **Abbildung 3-25** und **Abbildung 3-26** fotografisch dargestellt.

Abbildung 3-24: Pergamentartige Haut sowie trockener Nasenspiegel mit partieller Alopezie im Bestrahlungsbereich drei Monate nach Beendigung der Strahlentherapie bei Patient Nr. 25

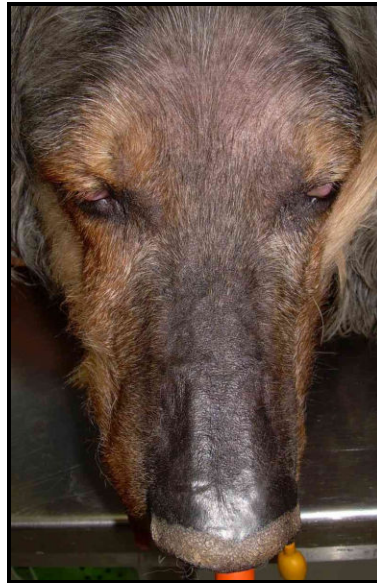


Abbildung 3-25: Leukotrichie drei bzw. sechs Monate nach Bestrahlungstherapie bei Patient Nr. 24 und Patient Nr. 15



Patient Nr. 24:
Leukotrichie 3 Monate bzw. 6 Monate nach Bestrahlung

Patient Nr. 15:

Abbildung 3-26: Periokulare dermale Nebenwirkungen bei Patient Nr. 22



2 Wochen nach Bestrahlung: akute Dermatitis, Alopezie und Hyperpigmentation periokular;
Zubildung suborbital tumorassoziiert

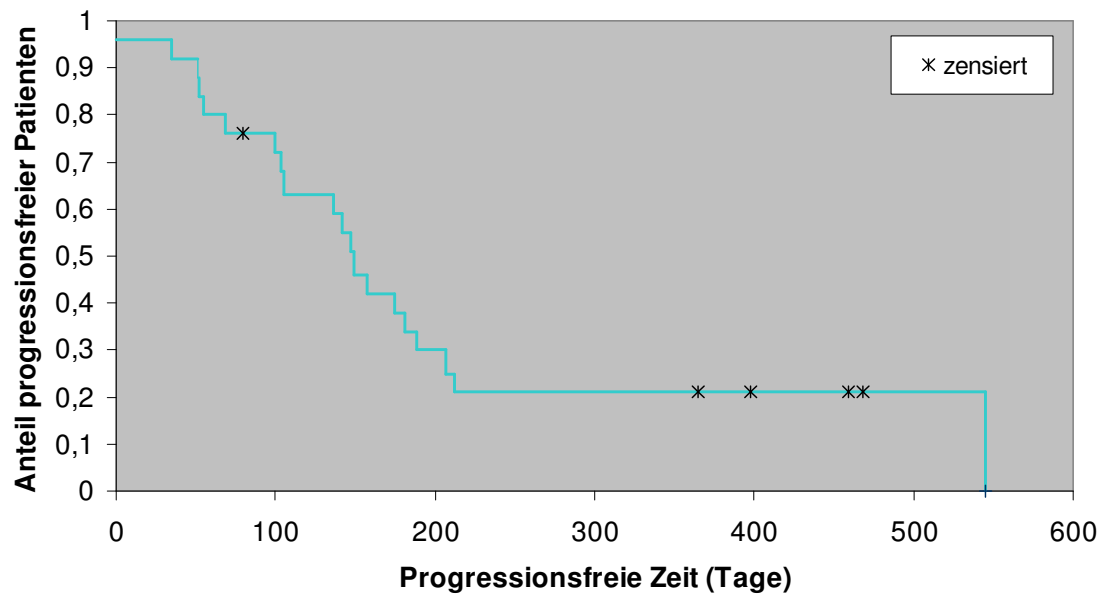


3 Monate nach Bestrahlung: chronische Alopezie, Hyperpigmentation und Lichenifikation periokular;
Zubildung suborbital tumorassoziiert

3.2.2.9 Progressionsfreie Zeit

Die Zeitspanne von Therapiebeginn bis zum Auftreten einer Progression der klinischen Symptomatik lag bei median 147 Tagen (Streubreite 0-545 Tage), wobei eine kurzzeitige Symptomprogression während der Bestrahlungstherapie mit anschließender Symptomlinderung, wie bei Patient Nr. 21 aufgetreten, nicht als Progression bewertet wurde. Ein Patient zeigte keine klinische Verbesserung durch die Therapie, während vier der fünf zum Studienendpunkt noch lebenden Patienten nach 459, 468, 398 und 365 Tagen noch symptomfrei waren. Patient Nr. 6, der aufgrund einer ungeklärten nicht-tumorspezifischen Symptomatik nach 80 Tagen euthanasiert wurde, wies zu dieser Zeit ebenfalls keine Progression der nasalen Symptomatik auf. Daher wurden diese fünf Patienten für die Berechnung der progressionsfreien Zeit mittels Kaplan-Meier-Schätzer zensiert. Eine graphische Darstellung der Kaplan-Meier-Kurve ist in **Abbildung 3-27** wiedergegeben.

Abbildung 3-27: Graphische Darstellung des Anteils progressionsfreier Patienten über die Zeit anhand der Berechnung im Kaplan-Meier-Schätzer für alle Studienpatienten (n=25) unter Zensierung von fünf Datensätzen



Die individuellen progressionsfreien Zeiten der Studienpatienten sind aus **Tabelle 3-32** zu entnehmen.

Tabelle 3-32: Zusammenfassung der individuellen progressionsfreien Zeit aller Studienpatienten (n=25)

Patienten Nr.	Beginn Meloxicam-Therapie	Progression klinische Symptomatik	Progressionsfreie Zeit (Tage)
1	23.04.2007	06.08.2007	105
2	04.06.2007	28.12.2007	207
3	01.11.2007	25.12.2007	55
4	30.10.2007	30.05.2008	212
5	16.11.2007	12.04.2008	147
6	20.11.2007	nz	79 ^a
7	07.02.2008	Keine Besserung	0
8	03.12.2007	16.03.2008	103
9	24.01.2008	22.06.2008	149
10	26.02.2008	06.05.2008	69
11	26.03.2008	01.05.2008	35
12	24.03.2008	16.05.2008	53
13	19.08.2008	27.11.2008	100
14	29.10.2008	22.04.2009	175
15	02.12.2008	01.06.2010	545
16	30.12.2008	05.06.2009	157
17	01.03.2009	20.07.2009	142
18	26.02.2009	17.04.2009	51
19	27.03.2009	10.08.2009	136
20	29.05.2009	nz	459 ^a
21	20.05.2009	nz	468 ^a
22	01.07.2009	28.12.2009	181
23	28.07.2009	nz	398 ^a
24	01.09.2009	nz	365 ^a
25	31.07.2009	04.02.2010	188

^a zensiert aufgrund progressionsfreier Symptomatik zum Studienendpunkt/Todeszeitpunkt
nz=nicht zutreffend

In der statistischen Analyse bezüglich des Einflusses mehrerer Variablen (Tumorart, Tumorstadium, COX-2 Expression und Alter) auf die progressionsfreie Zeit mittels **Cox-Regression** standen zunächst 20 vollständige Datensätze zur Auswertung zur Verfügung, da vier Patienten aufgrund fehlender Daten für den COX-2 Intensitätsscore und ein Patient aufgrund der Tumorart (Ästhesioneuroblastom) ausgeschlossen werden mussten.

In **Tabelle 3-33** sind die erhobenen Resultate zusammengefasst.

Tabelle 3-33: Resultate der Cox-Regression bezüglich des Einflusses mehrerer Variablen auf die progressionsfreie Zeit bei Anwendung von vier verschiedenen Auswertungsansätzen (jeweils n=20)

Variable	Progressionsfreie Zeit			
Tumorart grob	✓		✓	
Tumorart fein		✓ ¹		✓ ³
Tumorstadium	✓	✓	✓ ²	✓
Verteilungsscore	✓	✓		
Intensitätsscore	✓	✓		
COX-2 Score			✓	✓
Alter	✓	✓	✓	✓
p-Wert (gesamt)	0,078	0,020*	0,12	0,020*

✓ = Variable in Berechnung einbezogen (fett gedruckt=Variable mit signifikantem Einfluss)

¹⁻³ = siehe Details in nachfolgender Tabelle

* = statistisch signifikanter Wert ($p \leq 0,05$)

Lag der sogenannte u-Wert, der Quotient aus dem Koeffizient und dessen Standardfehler einer Variablen, annähernd über dem Wert 2, wurde von einem signifikanten Einfluss der Variablen auf die progressionsfreie Zeit ausgegangen. Dies traf für drei Variable zu, für die der entsprechende asymptotische p-Wert berechnet wurde (siehe **Tabelle 3-34**). Im vierten Auswertungsansatz zeigte zudem das Tumorstadium einen u-Wert nahe des Signifikanzlevels ($p=0,055$).

Tabelle 3-34: Signifikante Resultate bezüglich des Einflusses einzelner Variablen auf die progressionsfreie Zeit im Rahmen der COX-Regression bei 20 Patienten

Variable	Koeffizient	Standardfehler	u-Wert	angenäherter 95% Vertrauensbereich ^a	p-Wert
Tumorart fein ¹ (Chondrosarkom/ Adenokarzinom)	2,58	1,11	2,33	0,11-4,55	0,020
Tumorstadium ² Tumorart fein ³	0,68	0,31	2,21	1,58-2,83	0,027
(Chondrosarkom/ Adenokarzinom)	2,26	1,04	2,17	0,09-4,25	0,030

^a Berechnung durch u-Wert \pm 2facher Standardfehler

¹⁻³ signifikante Variable aus vorhergehender Tabelle

Zur Verbesserung der statistischen Teststärke wurde nachfolgend eine statistische Auswertung mittels **Cox-Regression** durchgeführt, bei der die COX-2 Parameter ausgeschlossen wurden, so dass 24 vollständige Datensätze zur Auswertung zur Verfügung standen.

Die erhobenen Ergebnisse sind in **Tabelle 3-35** dargestellt.

Tabelle 3-35: Resultate der Cox-Regression bezüglich des Einflusses mehrerer Variablen auf die progressionsfreie Zeit bei Anwendung von zwei verschiedenen Auswertungsansätzen (jeweils n=24)

Variable	Progressionsfreie Zeit	
Tumorart grob	√	
Tumorart fein		√
Tumorstadium	√ ¹	√ ²
Alter	√	√
p-Wert (gesamt)	0,013	0,013

√ = Variable in Berechnung einbezogen (fett gedruckt=Variable mit signifikantem Einfluss)

¹⁻² = siehe Details in nachfolgender Tabelle

Der u-Wert lag hierbei für das Tumorstadium bei >2 , so dass auch bei dieser Form der Auswertung ein signifikanter Einfluss der Variablen auf die progressionsfreie Zeit vorlag und der entsprechende asymptotische p-Wert berechnet wurde (siehe **Tabelle 3-36**).

Tabelle 3-36: Signifikante Resultate bezüglich des Einflusses einzelner Variablen auf die progressionsfreie Zeit im Rahmen der COX-Regression bei 24 Patienten

Variable	Koeffizient	Standard- fehler	u-Wert	angenäherter 95% Vertrauensbereich ^a	p-Wert
Tumorstadium ¹	0,83	0,31	2,70	2,09-3,31	0,007
Tumorstadium ²	0,72	0,31	2,33	1,72-2,95	0,020

^a Berechnung durch u-Wert \pm 2facher Standardfehler

¹⁻² signifikante Variable aus vorhergehender Tabelle

In dieser Auswertung erwies sich die feine Unterteilung der Tumorart nicht mehr als signifikant ($p=0,084$ für den Vergleich Chondrosarkom zu Adenokarzinom).

Die medianen progressionsfreien Zeiten der Patienten unterteilt nach Tumorstadium wurden mittels Kaplan-Meier-Schätzer bestimmt. Die Resultate sind in **Tabelle 3-37** zusammengefasst und in **Abbildung 3-28** graphisch dargestellt.

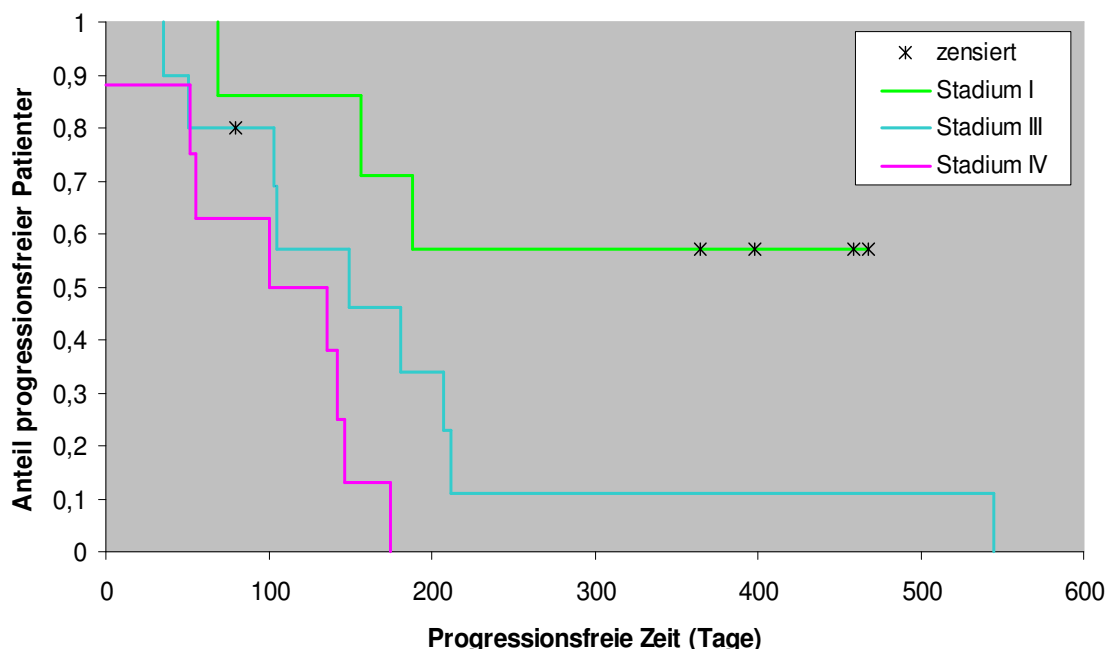
Tabelle 3-37: Mediane progressionsfreie Zeit und Streubreite der Studienteilnehmer (n=25) unterteilt nach Tumorstadium

Mediane progressionsfreie Zeit (Tage)		
Streubreite		
Tumorstadium I n=7; n=4 zensiert	Tumorstadium III n=10; n=1 zensiert	Tumorstadium IV n=8
^a	132,5	100
69-468	35-545	0-175

^a Berechnung des Medianwertes aufgrund eines hohen Zensierungsanteils nicht möglich

Aufgrund eines zensierten Datenanteils von 57% konnte für Patienten im Tumorstadium I keine mediane progressionsfreie Zeit berechnet werden, was anhand der Kaplan-Meier-Kurve sehr eindrücklich wird. Da vier von sieben Patienten nach 365-468 Tagen zum Studienendpunkt zensiert werden mussten, deutet dies bereits auf längere progressionsfreie Zeiten im Vergleich zu Patienten in Stadium III und IV hin.

Abbildung 3-28: Graphische Darstellung des Anteils progressionsfreier Patienten über die Zeit anhand der Berechnung im Kaplan-Meier-Schätzer für alle Studienpatienten (n=25) unterteilt nach Tumorstadium unter Zensierung von fünf Datensätzen

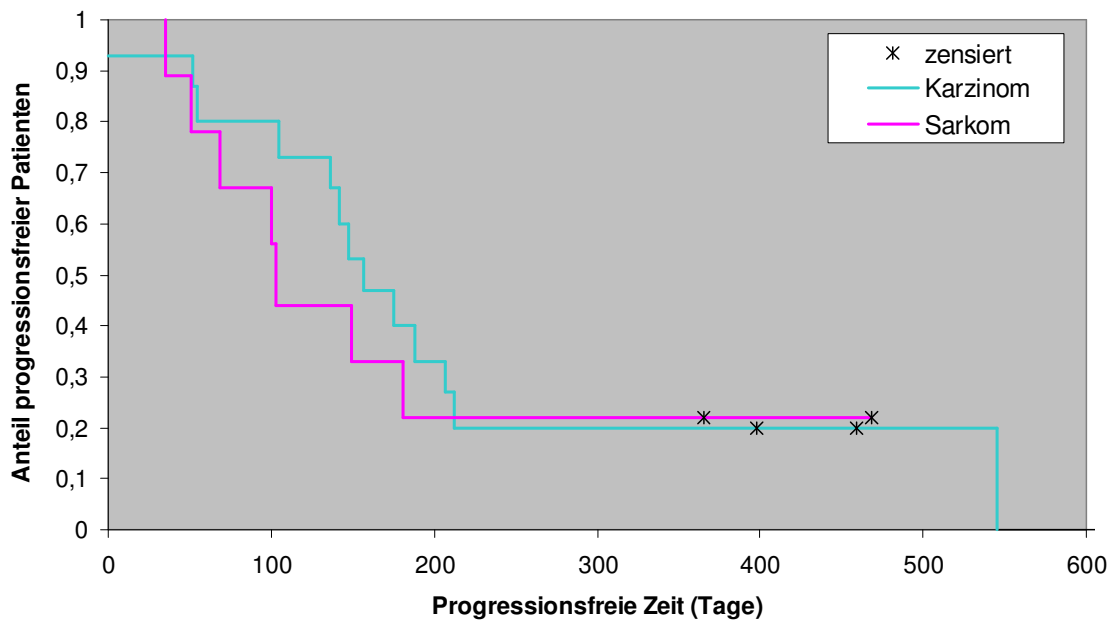


Zudem wurden die medianen progressionsfreien Zeiten der Patienten unterteilt nach Tumorart, sowohl nach grober als auch feiner Einteilung, mittels Kaplan-Meier-Schätzer bestimmt. Die Resultate sind in **Tabelle 3-38** zusammengefasst und in **Abbildung 3-29** und **Abbildung 3-30** graphisch dargestellt.

Tabelle 3-38: Mediane progressionsfreie Zeit und Streubreite der Studienpatienten (n=24) unterteilt nach Tumorart (grob und fein)

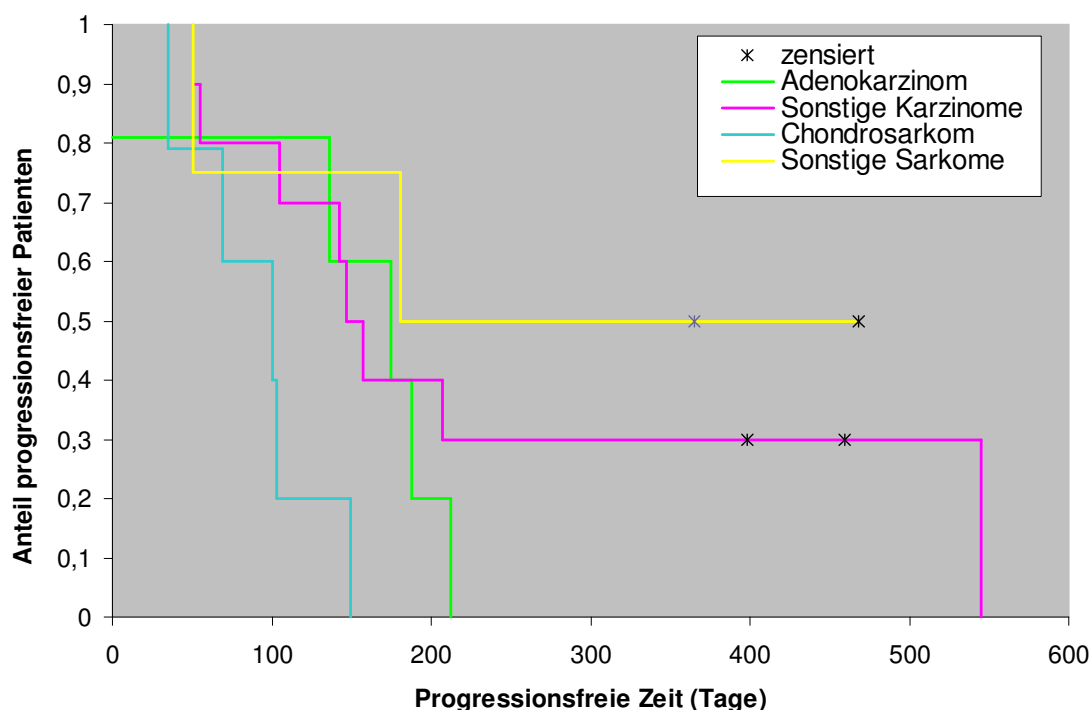
Mediane progressionsfreie Zeit (Tage)			
Streubreite			
Karzinom n=15; n=2 zensiert		Sarkom n=9; n=2 zensiert	
152		102	
0-545		35-468	
Adenokarzinom n=5	Sonstige Karzinome n=10; n=2 zensiert	Chondrosarkom n=5	Sonstige Sarkome n=4; n=2 zensiert
156	147	85	181
0-212	52-545	35-149	51-468

Abbildung 3-29: Graphische Darstellung des Anteils progressionsfreier Patienten über die Zeit anhand der Berechnung im Kaplan-Meier-Schätzer für alle Studienpatienten (n=25) unterteilt nach Tumorart (grob) unter Zensierung von vier Datensätzen



Ein fehlender signifikanter Einfluss der Tumorart, unterteilt nach Karzinom und Sarkom, lässt sich hier bereits vermuten, da sich beide Kurven sehr ähnlich darstellten. Tendenziell zeigten die Sarkom-Patienten eine etwas kürzere progressionsfreie Zeit, wobei beide Gruppen Langzeitremissionen aufwiesen.

Abbildung 3-30: Graphische Darstellung des Anteils progressionsfreier Patienten über die Zeit anhand der Berechnung im Kaplan-Meier-Schätzer für alle Studienpatienten (n=25) unterteilt nach Tumorart (fein) unter Zensierung von vier Datensätzen

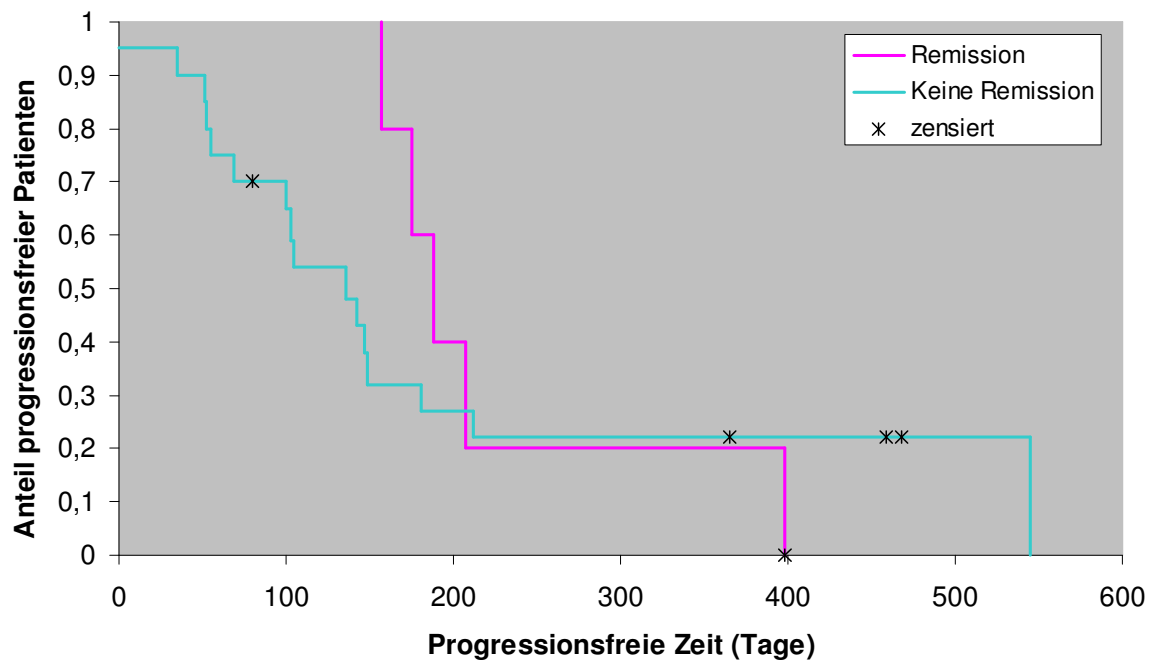


Abschließend erfolgte die Auswertung der medianen progressionsfreien Zeit unterteilt nach Patienten mit oder ohne Tumorremission nach Meloxicam-Monotherapie mittels Kaplan-Meier-Schätzer. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 3-39** zusammengefasst und in **Abbildung 3-31** dargestellt.

Tabelle 3-39: Mediane progressionsfreie Zeit und Streubreite der Studienpatienten (n=25) unterteilt nach Tumorremission in Folge der Meloxicam-Monotherapie

Mediane progressionsfreie Zeit (Tage)	
Tumorremission n=5; n=1 zensiert	Keine Tumorremission n=20; n=4 zensiert
181,5	127
157-398	0-545

Abbildung 3-31: Graphische Darstellung des Anteils progressionsfreier Patienten über die Zeit anhand der Berechnung im Kaplan-Meier-Schätzer für Studienpatienten (n=25) unterteilt nach Tumorremission unter Zensierung von fünf Datensätzen

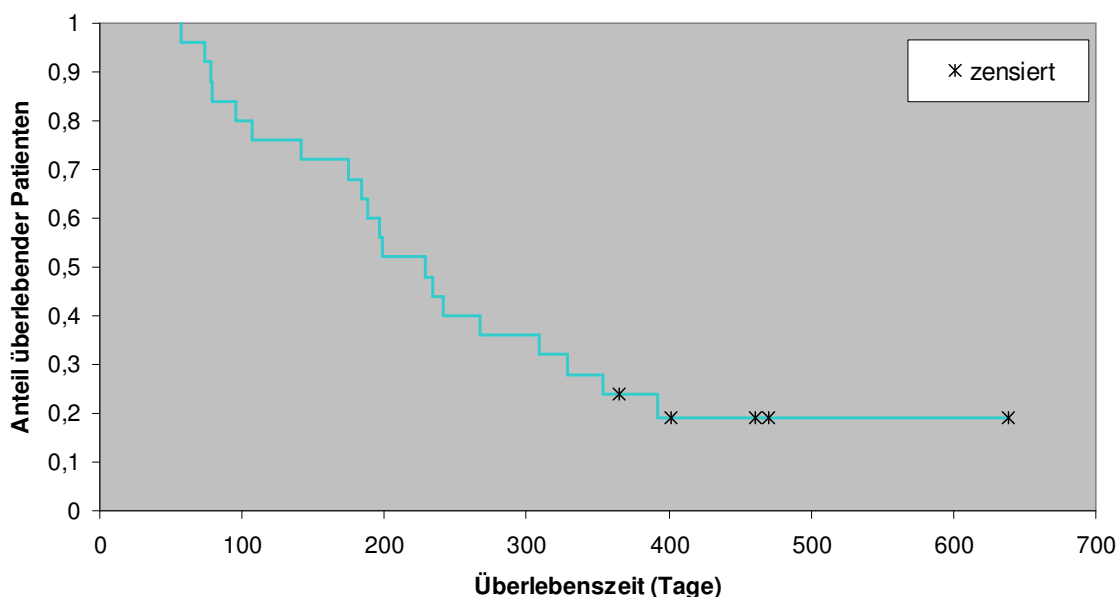


3.2.2.10 Überlebenszeit

Die mediane Überlebenszeit der Patienten nach palliativer hypofraktionierter Bestrahlung und adjuvanter Meloxicam-Gabe lag bei 214 Tagen (Streubreite 57-639 Tage), wobei fünf Patienten zum Zeitpunkt des Studienendpunktes noch nicht verstorben waren und somit für die Berechnung mittels Kaplan-Meier-Schätzer zensiert wurden. Diese fünf Patienten lebten zu diesem Zeitpunkt 639, 461, 470, 401 und 365 Tage nach Therapiebeginn (siehe **Abbildung 3-32**).

Der überwiegende Anteil der Patienten musste aufgrund des Primärtumors euthanasiert werden (n=16) bzw. verstarb aufgrund dessen (n=2). Bei Patient Nr. 6 konnten keine Hinweise auf einen Zusammenhang der Euthanasie Ursache (schlechtes Allgemeinbefinden, Leukozytose, Hypalbuminämie) mit dem Nasentumor festgestellt werden, da keine Progression der nasalen Symptomatik vorlag und sich in der Computertomographie zu Bestrahlungsende, die etwa sechs Wochen zuvor stattfand, eine Remission des Tumors um 51% gezeigt hatte. Jedoch konnte ein Zusammenhang mit Nebenwirkungen der Meloxicam-Therapie nicht ausgeschlossen werden.

Abbildung 3-32: Graphische Darstellung des Anteils überlebender Patienten über die Zeit anhand der Berechnung im Kaplan-Meier-Schätzer für alle Studienpatienten (n=25) unter Zensierung von fünf Datensätzen



Eine Zusammenfassung der individuellen Überlebenszeiten und Todesursachen der Patienten ist in **Tabelle 3-40** wiedergegeben.

Tabelle 3-40: Überlebenszeiten und Todesursachen der Studienpatienten (n=25)

Patienten Nr.	Tumor-stadium initial	Beginn Meloxicam-Therapie	Todeszeit-punkt	Überlebens-zeit (Tage)	Todesursache
1	III	23.04.2007	19.12.2007	241	Primärtumor
2	III	04.06.2007	27.04.2008 ^a	329	Primärtumor
3	IV	01.11.2007	15.02.2008	107	Primärtumor
4	III	30.10.2007	22.07.2008	267	Primärtumor
5	IV	16.11.2007	30.05.2008	197	Primärtumor
6	III	20.11.2007	06.02.2008	80	Verdacht auf Therapie-nebenwirkung ^b
7	IV	07.02.2008	24.04.2008	78	Primärtumor
8	III	03.12.2007	18.07.2008	229	Primärtumor
9	III	24.01.2008	18.02.2009 ^a	392	Primärtumor
10	I	26.02.2008	31.05.2008	96	Verdacht auf Primärtumor
11	IV	24.03.2008	05.06.2008	74	Primärtumor
12	III	26.03.2008	10.10.2008	199	Primärtumor
13	IV	19.08.2008	06.01.2009	141	Primärtumor
14	IV	29.10.2008	04.05.2009	188	Primärtumor
15	III	02.12.2008	nz ^a	639*	nz
16	I	30.12.2008	01.07.2009	184	Primärtumor
17	IV	01.03.2009	22.08.2009	175	Primärtumor
18	III	26.02.2009	23.04.2009	57	Primärtumor
19	IV	27.03.2009	15.11.2009	234	Primärtumor
20	I	29.05.2009	nz	461*	nz
21	I	20.05.2009	nz	470*	nz
22	III	01.07.2009	07.05.2010	309	Primärtumor
23	I	28.07.2009	nz	401*	nz
24	I	01.09.2009	nz	365*	nz
25	I	31.07.2009	20.07.2010	354	Verdacht auf metastasierten Milztumor

^a inklusive Nachbestrahlung

^b schlechtes Allgemeinbefinden, Leukozytose und Hypoalbuminämie

* für Berechnung zensiert; nz = nicht zutreffend

In der statistischen Überlebenszeitanalyse bezüglich des Einflusses mehrerer Variablen (siehe Kapitel 3.1.2.11) mittels **Cox-Regression** standen zunächst 20 vollständige Datensätze zur Auswertung zur Verfügung, da vier Patienten aufgrund fehlender Daten für den COX-2 Intensitätsscore und ein Patient aufgrund der Tumorart (Ästhesioneuroblastom) ausgeschlossen wurden.

Die Ergebnisse sind in **Tabelle 3-41** dargestellt.

Tabelle 3-41: Resultate der Cox-Regression bezüglich des Einflusses mehrerer Variablen auf die Überlebenszeit bei Anwendung von vier verschiedenen Auswertungsansätzen (jeweils n=20)

Variable	Überlebenszeit			
Tumorart grob	✓		✓	
Tumorart fein		✓		✓
Tumorstadium	✓ ¹	✓ ²	✓ ³	✓ ⁴
Verteilungsscore	✓	✓		
Intensitätsscore	✓	✓		
COX-2 Score			✓	✓
Alter	✓	✓	✓	✓
p-Wert (gesamt)	0,11	0,15	0,074	0,10

✓ = Variable in Berechnung einbezogen (fett gedruckt=Variable mit signifikantem Einfluss)

¹⁻⁴ = siehe Details in nachfolgender Tabelle

Das Testergebnis wies in keiner der vier Auswertungsansätze signifikante Ergebnisse auf. Bei Betrachtung der Einzelvariablen fielen jedoch die in **Tabelle 3-42** dargestellten signifikanten Ergebnisse auf.

Tabelle 3-42: Signifikante Resultate bezüglich des Einflusses einzelner Variablen auf die Überlebenszeit im Rahmen der COX-Regression bei 20 Patienten

Variable	Koeffizient	Standard- fehler	u-Wert	angenäherter 95% Vertrauensbereich ^a	p-Wert
Tumorstadium ¹	0,76	0,35	2,19	1,50-2,88	0,028
Tumorstadium ²	0,72	0,34	2,12	1,43-2,80	0,034
Tumorstadium ³	0,79	0,33	2,42	1,77-3,07	0,016
Tumorstadium ⁴	0,70	0,33	2,14	1,48-2,80	0,032

^a u-Wert ± 2facher Standardfehler

¹⁻⁴ = signifikante Variable aus vorhergehender Tabelle

Damit zeigte sich in allen vier Überlebenszeitanalyse-Gruppen ein signifikanter Einfluss des Tumorstadiums, der sich auch in den medianen Überlebenszeiten widerspiegelte (siehe unten). Da die Koeffizienten für das Tumorstadium im positiven Bereich lagen, bedeutet dies, dass das Risiko für das Eintreten des Todes mit zunehmendem Tumorstadium anstieg. Somit wiesen Patienten im Tumorstadium IV ein höheres Sterberisiko auf als Patienten im Tumorstadium I.

Zur Verbesserung der statistischen Teststärke wurde nachfolgend eine Auswertung mittels **Cox-Regression** durchgeführt, bei der die COX-2 Parameter ausgeschlossen wurden, so dass 24 vollständige Datensätze zur Auswertung zur Verfügung standen.

Die dabei erhobenen Ergebnisse sind in **Tabelle 3-43** dargestellt.

Tabelle 3-43: Resultate der Cox-Regression bezüglich des Einflusses mehrerer Variablen auf die Überlebenszeit, unter Ausschluss der COX-2 Variablen, bei Anwendung von zwei verschiedenen Auswertungsansätzen (jeweils n=24)

Variable	Überlebenszeit	
Tumorart grob	√	
Tumorart fein		√
Tumorstadium	√ ¹	√ ²
Alter	√	√
p-Wert (gesamt)	0,010	0,041

√ = Variable in Berechnung einbezogen (fett gedruckt=Variable mit signifikantem Einfluss)

¹⁻² = siehe Details in nachfolgender Tabelle

Bei dieser Form der Auswertung fiel in beiden Gruppen eine signifikante einflussnehmende Variable auf, da sich erwartungsgemäß auch hier ein signifikanter Einfluss des Tumorstadiums auf die Überlebenszeit darstellen ließ (siehe **Tabelle 3-44**).

Tabelle 3-44: Signifikante Resultate bezüglich des Einflusses einzelner Variablen auf die Überlebenszeit im Rahmen der COX-Regression bei 24 Patienten

Variable	Koeffizient	Standardfehler	u-Wert	angenäherter 95% Vertrauensbereich ^a	p-Wert
Tumorstadium ¹	0,87	0,31	2,77	2,15-3,40	0,0055
Tumorstadium ²	0,83	0,32	2,58	1,93-3,22	0,010

^a u-Wert ± 2facher Standardfehler

¹⁻² signifikante Variable aus vorhergehender Tabelle

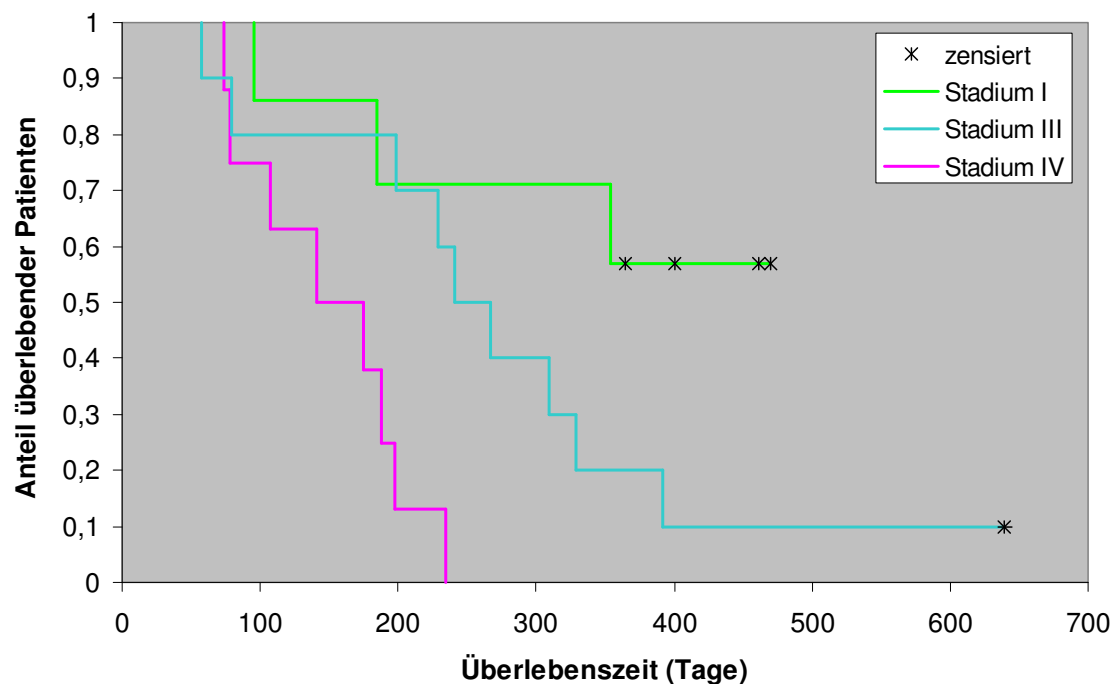
Die medianen Überlebenszeiten der Patienten unterteilt nach Tumorstadium wurden mittels Kaplan-Meier-Schätzer bestimmt. Die Resultate sind in **Tabelle 3-45** zusammengefasst und in **Abbildung 3-33** graphisch dargestellt.

Tabelle 3-45: Mediane Überlebenszeit und Streubreite der Studienpatienten (n=25) unterteilt nach Tumorstadium

Mediane Überlebenszeit (Tage) Streubreite		
Tumorstadium I n=7; n=4 zensiert	Tumorstadium III n=10; n=1 zensiert	Tumorstadium IV n=8
a	254	141
96-470	57-639	74-234

^aKeine Berechnung der medianen Überlebenszeit aufgrund eines hohen Zensierungsanteils möglich

Abbildung 3-33: Graphische Darstellung des Anteils überlebender Patienten über die Zeit anhand der Berechnung im Kaplan-Meier-Schätzer für alle Studienpatienten (n=25) unterteilt nach Tumorstadium unter Zensierung von fünf Datensätzen



Die medianen Überlebenszeiten der Patienten wurden zudem nach Unterteilung bezüglich der Tumorart, sowohl nach grober und feiner Einteilung, mittels Kaplan-Meier-Schätzer bestimmt. Die Resultate sind in **Tabelle 3-46** zusammengefasst und in **Abbildung 3-34** (Tumorart grob) und **Abbildung 3-35** (Tumorart fein) graphisch dargestellt.

Tabelle 3-46: Mediane Überlebenszeit und Streubreite der Studienpatienten (n=24) unterteilt nach Tumorart (grob und fein)

Mediane Überlebenszeit (Tage) Streubreite			
Karzinom n=15; n=3 zensiert		Sarkom n=9; n=2 zensiert	
216		214	
74-639		57-470	
Adenokarzinom n=5	Sonstige Karzinome n=10; n=3 zensiert	Chondrosarkom n=5	Sonstige Sarkome n=4; n=2 zensiert
211	197	170	309
78-354	74-639	96-392	57-470

Anhand dieser Ergebnisse zeigte sich bereits sehr eindrücklich, dass insbesondere zwischen Patienten mit Karzinomen und Sarkomen kein Unterschied in den medianen Überlebenszeiten vorlag (216 und 214 Tage). Bei detaillierter Betrachtung zeigten die Chondrosarkom-Patienten die kürzesten medianen Überlebenszeiten (170 Tage), während die Patienten mit Sonstigen Sarkomen, vorwiegend Undifferenzierte Sarkome, median am längsten (309 Tage) überlebten. Jedoch basierten diese Ergebnisse auf sehr geringen Fallzahlen und sind daher nur als orientierend zu sehen.

Abbildung 3-34: Graphische Darstellung des Anteils überlebender Patienten über die Zeit anhand der Berechnung im Kaplan-Meier-Schätzer für Studienpatienten (n=24) unterteilt nach Tumorart (grob) unter Zensierung von fünf Datensätzen

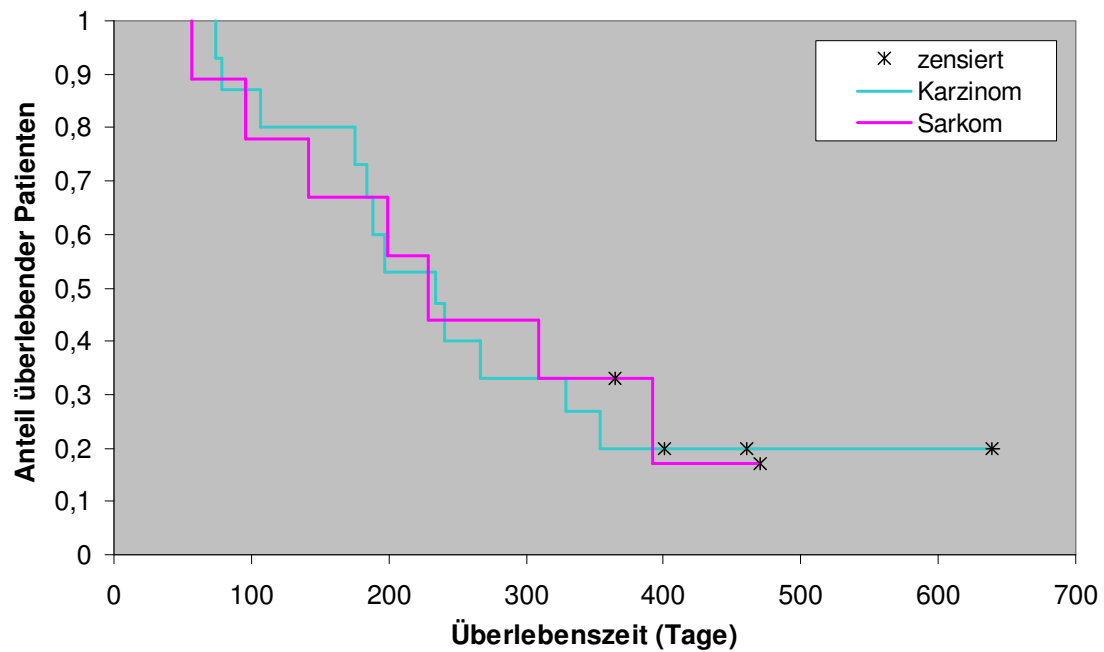
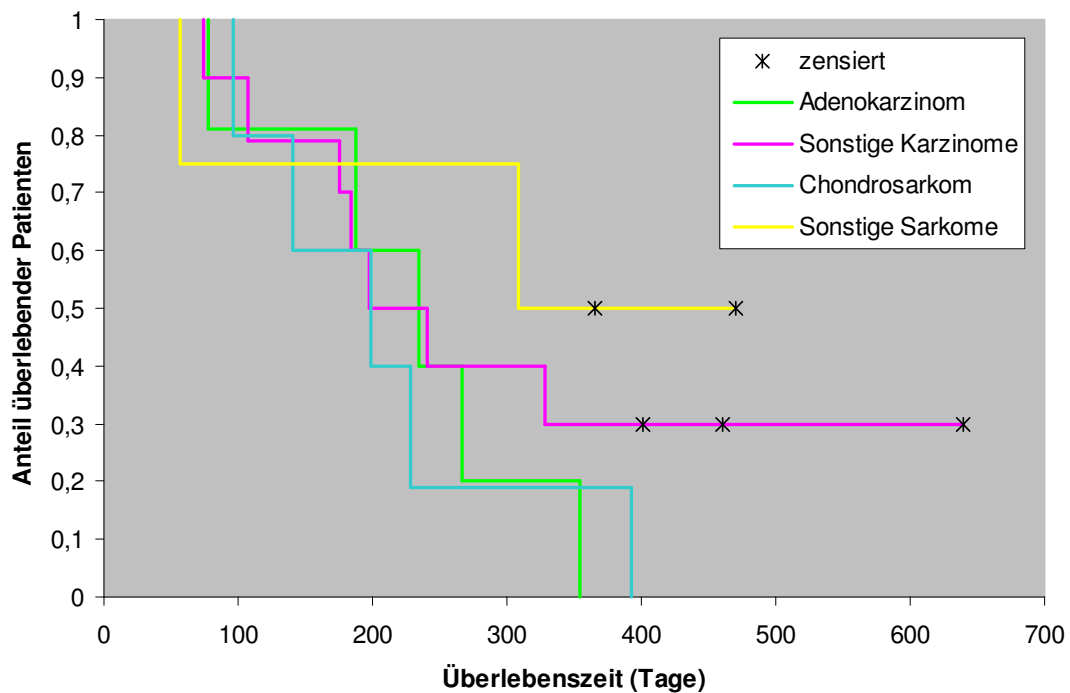


Abbildung 3-35: Graphische Darstellung des Anteils überlebender Patienten über die Zeit anhand der Berechnung im Kaplan-Meier-Schätzer für Studienpatienten (n=24) unterteilt nach Tumorart (fein) unter Zensierung von fünf Datensätzen



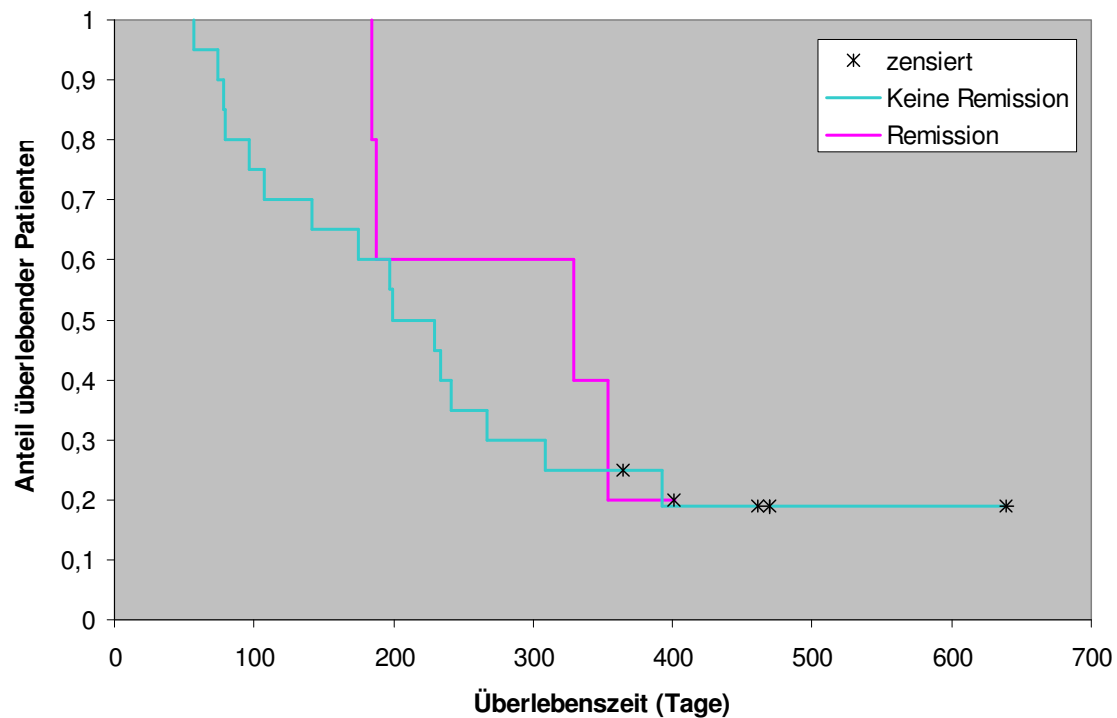
Abschließend erfolgte die Auswertung der medianen Überlebenszeiten unterteilt nach Patienten mit oder ohne Tumorremission nach Meloxicam-Monotherapie mittels Kaplan-Meier-Schätzer. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 3-47** zusammengefasst.

Tabelle 3-47: Mediane Überlebenszeit und Streubreite der Studienpatienten (n=25) unterteilt nach Tumorremission in Folge der Meloxicam-Monotherapie

Mediane Überlebenszeit (Tage) Streubreite	
Tumorremission n=5; n=1 zensiert	Keine Tumorremission n=20; n=4 zensiert
258,5	199
184-401	57-639

^a Keine Berechnung der medianen Überlebenszeit aufgrund eines hohen Zensierungsanteils möglich

Abbildung 3-36: Graphische Darstellung des Anteils überlebender Patienten über die Zeit anhand der Berechnung im Kaplan-Meier-Schätzer für Studienpatienten (n=25) unterteilt nach Tumorremission unter Zensierung von fünf Datensätzen



3.2.2.11 Statistische Zusammenhangsanalyse

Tumorart und Tumorremission

Im Rahmen der deskriptiven Statistik wurde die Zielgröße Tumorremission nach Monotherapie mit Meloxicam in Bezug auf die Variable Tumorart (grob und fein) tabellarisch in Form einer zweidimensionalen Häufigkeitsauszählung dargestellt. Zudem wurde der Zusammenhang beider Variablen mittels des exakten Fisher Tests (Tumorremission und Tumorart grob) und des Tests von Fisher nach Freeman-Halton (Tumorremission und Tumorart fein) statistisch bewertet. Dabei konnte kein Einfluss der Tumorart, weder nach grober noch feiner Einteilung, auf den Tumorrückgang nachgewiesen werden, wobei die geringen Fallzahlen als Einschränkung der Beurteilbarkeit beachtet werden müssen. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 10-8** und **Tabelle 10-9** im Anhang zu finden.

COX-2 Variable sowie Alter und Tumorremission

Eine zweidimensionale Häufigkeitsauszählung fand ebenfalls für die Zielgröße Tumorremission in Bezug auf den COX-2 Verteilungs- und Intensitätsscore, den COX-2 Score sowie das Alter der Patienten, die alle ordinalskalierte Merkmale darstellen, statt. Details sind in **Tabelle 10-10** (Verteilungsscore), **Tabelle 10-11** (Intensitätsscore), **Tabelle 10-12** (COX-2 Score) und **Tabelle 10-13** (Alter) im Anhang zusammengefasst.

Im Rahmen dieser Häufigkeitsaufzählung wurde auffällig, dass alle fünf Patienten mit partieller Remission nach Meloxicam-Monotherapie einen hohen Verteilungsscore (>50%), aber überwiegend einen schwachen Intensitätsscore, vergleichbar zu den Patienten ohne Tumorremission, aufwiesen.

Für den COX-2 Score zeigte sich keine einheitliche Verteilung unter den Patienten mit partieller Tumorremission. Teilweise lagen die Werte sehr hoch (8-20), teilweise aber auch nur im mittleren Bereich (4-5).

Bei Betrachtung der Altersverteilung fiel bereits auf, dass alle fünf Patienten mit partieller Remission nach Meloxicam-Monotherapie alte Hunde, das heißt über 10 Jahre alt, waren. Dieser Einfluss zeigte sich auch in der nachfolgenden Zusammenhangsanalyse.

Für beide COX-2 Variablen wurde eine explorative Zusammenhangsanalyse in Form einer exakten logistischen Regression durchgeführt. Der Test erfolgte entweder mit dem Datensatz von 21 Patienten, da für den Intensitätsscore für vier Patienten keine Daten vorlagen (COX-2-negative Tumoren), oder mit dem Datensatz von 25 Patienten. Aufgrund der geringen Fallzahl im Rahmen dieses asymptotischen Tests lag eine Einschränkung der Aussagekraft der erhobenen Ergebnisse vor, da ein nicht unerheblicher Zufallseinfluss möglich war.

Zunächst wurde ein möglicher Zusammenhang mehrerer Variablen (Alter, COX-2 Verteilungs- sowie Intensitätsscore) auf die Tumorremission bewertet. Dabei konnte die stärkste Korrelation zwischen der Tumorremission und dem Merkmal Alter festgestellt werden, die mit einem p-Wert von 0,068 jedoch geringfügig oberhalb des Signifikanzlevels lag. Für den Intensitätsscore konnte aufgrund unzureichender Daten kein Wert ermittelt werden. Die Ergebnisse dieser Auswertung sind in **Tabelle 3-48** aufgelistet.

Tabelle 3-48: Ergebnisse der exakten logistischen Regression bezüglich eines Zusammenhangs zwischen der Tumorremission und mehreren Variablen

Variable	Beta-Koeffizient	p-Wert
Verteilungsscore	1,00	0,11
Intensitätsscore	^a	^a
Alter	0,73	0,068

^aKeine Berechnung aufgrund unzureichender Daten

Dabei zeigten die positiven Beta-Koeffizienten, dass bei zunehmenden Werten für den Verteilungsscore oder das Alter auch die Chance für das Auftreten einer Tumorremission anstieg.

Bei differenzierter Auswertung der einzelnen Variablen in Bezug auf einen Zusammenhang mit der Tumorremission konnten alle 25 Datensätze für das Alter und den Verteilungsscore verwendet werden, während für den Intensitätsscore aus oben genannten Gründen lediglich 21 Datensätze zur Verfügung standen. Die in **Tabelle 3-49** dargestellten Daten wurden dabei erhoben.

Tabelle 3-49: Ergebnisse der exakten logistischen Regression bezüglich eines Zusammenhangs zwischen der Tumorremission und einzelner Variablen

Variable	Beta-Koeffizient	p-Wert
Alter	0,59	0,031
Verteilungsscore	1,39	0,012
Intensitätsscore	0,27	0,78

Somit zeigte sich, dass bei allen Variablen mit Zunahme der Einheit, beispielsweise Zunahme des Alters, die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer Tumorremission anstieg. Dabei schien der COX-2 Verteilungsscore mit dem Alter zu korrelieren, wobei letztere Variable einen größeren Einfluss auf die Tumorremission einzunehmen schien.

Bei Berechnung der exakten logistischen Regression für das Alter und den COX-2 Score mit der Tumorremission, zeigten sich die in **Tabelle 3-50** dargestellten Ergebnisse.

Tabelle 3-50: Ergebnisse der exakten logistischen Regression bezüglich eines Zusammenhangs zwischen der Tumorremission und dem Alter sowie COX-2 Score

Variable	Beta-Koeffizient	p-Wert
Alter	1,25	0,071
COX-2 Score	0,76	0,079

Damit zeigte sich für das Alter erneut, dass ein positiver Zusammenhang mit der Tumorremission bestand.

Bei separater Auswertung des Zusammenhangs zwischen COX-2 Score und Tumorremission, basierend auf 21 Datensätzen, ergab sich das in **Tabelle 3-51** dargestellte Ergebnis.

Tabelle 3-51: Ergebnis der exakten logistischen Regression bezüglich eines Zusammenhangs zwischen der Tumorremission und dem COX-2 Score

Variable	Beta-Koeffizient	p-Wert
COX-2 Score	0,22	0,11

Somit nahm der COX-2 Score keinen nachweisbar bedeutsamen Einfluss auf die Tumorremission ein.

Tumorart und COX-2 Variable

Eine zweidimensionale Häufigkeitsauszählung fand nachfolgend auch für die Variablen Tumorart nach grober und feiner Unterteilung sowie COX-2 Verteilungs- und Intensitätsscore und COX-2 Score statt. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 10-14** bis **Tabelle 10-19** im Anhang zusammengefasst.

Dabei wurde auffällig, dass die Mehrheit der Karzinome einen hohen Verteilungsscore aufwies, während die Mehrheit der Sarkome im unteren Bereich lag.

Bei feiner Unterteilung der Tumorarten war zu erkennen, dass insbesondere Unterschiede zwischen Chondrosarkomen und Sonstigen Sarkomen, die überwiegend undifferenzierte Formen beinhalteten, bestanden. Undifferenzierte Sarkome zeigten eine Tendenz zu höheren Verteilungsscores als Chondrosarkome, wobei die geringen Fallzahlen die Beurteilung deutlich einschränkten.

Sowohl bei grober als auch feiner Unterteilung der Tumorarten war zu erkennen, dass die meisten Tumoren geringe COX-2 Intensitätsscores und nur in Einzelfällen

eine starke Intensität aufwiesen. Insgesamt waren keine deutlichen Tendenzen zwischen den einzelnen Tumorarten zu erkennen.

Die Zusammenhangsanalyse der COX-2 Variablen mit den grob unterteilten Tumorarten wurde aufgrund des Vorliegens von zwei Gruppen (Karzinom und Sarkom) mit dem Wilcoxon-Mann-Whitney-Test durchgeführt.

Der Vergleich der Gruppen führte zu folgenden p-Werten:

Tumorart (grob) und Verteilungsscore: p-Wert=0,15

Tumorart (grob) und Intensitätsscore: p-Wert=0,60

Tumorart (grob) und COX-2 Score: p-Wert=0,23

Somit konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang der Variablen festgestellt werden.

Für die Zusammenhangsanalyse der Tumorarten nach feiner Unterteilung mit den COX-2 Variablen wurde hingegen der Kruskal-Wallis-Test angewendet, da hier vier Gruppen (Adenokarzinom, Sonstige Karzinome, Chondrosarkome, Sonstige Sarkome) vorlagen.

Der Vergleich der Gruppen führte zu folgenden p-Werten:

Tumorart (fein) und Verteilungsscore: p-Wert = 0,23

Tumorart (fein) und Intensitätsscore: p-Wert = 0,54

Tumorart (fein) und COX-2 Score: p-Wert = 0,65

Somit zeigten sich auch für die feine Unterteilung der Tumorarten keine Hinweise auf einen Zusammenhang mit den COX-2 Variablen.

Tumorstadium und COX-2 Variable

Abschließend erfolgte eine zweidimensionale Häufigkeitsauszählung der Variablen Tumorstadium und COX-2 Verteilungs- (siehe **Tabelle 10-20** im Anhang) und Intensitätsscore (siehe **Tabelle 10-21**) sowie COX-2 Score (siehe **Tabelle 10-22**).

Allgemein war eine ungleichmäßige Verteilung festzustellen, wobei eine Tendenz der Tumorstadien I und IV zu höheren Verteilungsscores vorlag. Die Intensitätsscores befanden sich bei allen drei Tumorstadien im unteren Bereich.

Die Verteilung der COX-2 Scores innerhalb der Tumorstadien schien keine erkennbaren Tendenzen aufzuweisen.

Die Zusammenhangsanalyse dieser Variablen erfolgte mithilfe des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman, da es sich um ordinalskalierte Variable handelte. Dabei gab der Rangkorrelationskoeffizient r_s das Verhältnis der jeweiligen Wertepaare an.

Zusammenhang Tumorstadium und Verteilungsscore

$r_s = 0,0088$ p-Wert = 0,97

Zusammenhang Tumorstadium und Intensitätsscore

$r_s = 0,1070$ p-Wert = 0,64

Zusammenhang Tumorstadium und COX-2 Score

$r_s = 0,0458$ p-Wert = 0,84

Für keines der Variablenpaare lag ein Hinweis auf einen statistisch signifikanten Zusammenhang vor.

4 DISKUSSION

4.1 Immunhistochemische Studie

Eine aus Publikationen hervorgehende Vergleichsgrundlage bezüglich der COX-2 Expression kaniner intranasaler Tumoren liegt bisher lediglich für verschiedene Karzinom-Subtypen vor. In dieser Literatur wurde über 71% bis 87% COX-2-positive Proben berichtet, wobei zu beachten ist, dass die untersuchten Fallzahlen mit 15 bis 24 Proben sehr gering waren (BORZACCHIELLO et al., 2004; KLEITER et al., 2004; IMPELLIZERI und ESPLIN, 2007). Somit untermauerte der in der vorliegenden Untersuchung evaluierte Wert von 85% COX-2-positiver Karzinome die publizierten Befunde auch an einer größeren Fallzahl von insgesamt 87 Proben. Zusätzlich deuten humanmedizinische Untersuchungen ebenfalls auf einen vergleichbaren Prozentsatz COX-2-positiver Karzinome hin. In einer Studie von SOO et al. (2005), in der 42 nasopharyngeale Karzinome immunhistochemisch hinsichtlich einer COX-2 Expression untersucht wurden, waren 79% der Proben positiv. Eine weitere Publikation berichtete über eine COX-2 Expression bei 65% intranasaler Karzinome und deutlich geringeren Werten bei hyperplastischer oder physiologischer Nasenschleimhaut (CUI et al., 2008). Somit stellt sich für intranasale Karzinome, sowohl in der Veterinär- als auch der Humanmedizin, ein relativ einheitliches Bild bezüglich einer Überexpression des COX-2 Enzyms dar.

In zwei publizierten Studien wurde zudem anhand einer geringen Fallzahl (n=5) berichtet, dass kanine intranasale Plattenepithelkarzinome eine sehr ausgeprägte Überexpression von COX-2 aufwiesen (KLEITER et al., 2004; IMPELLIZERI und ESPLIN, 2007). In der ersten Studie wurde ein mittlerer COX-2 Score bei vier Plattenepithelkarzinomen von 11,3 (Spanne 9-12) festgestellt, der somit nahe am Maximalwert von 12 lag und sich deutlich von den anderen untersuchten Karzinomen absetzte (KLEITER et al., 2004). In der zweiten Studie zeigten 95% der Tumorzellen eines Plattenepithelkarzinoms eine COX-2 Expression, was den höchsten Wert aller untersuchten Karzinome darstellte (IMPELLIZERI und ESPLIN, 2007). Auch in anderen Lokalisationen (Mundhöhle, Haut, Zehen) konnte eine COX-2 Überexpression bei 100% der Plattenepithelkarzinom-Proben (n=40) mit überwiegend moderater (n=20) oder starker (n=17) Intensität nachgewiesen werden, während physiologische Keratinozyten keine oder lediglich eine sehr schwache

COX-2 Expression aufwiesen (PESTILI DE ALMEIDA et al., 2001). Diese Resultate wurden zudem in einer *in-vitro* Studie bestätigt (PRONOVOST et al., 2004). Analog zu den bisher publizierten Befunden konnte in der vorliegenden immunhistochemischen Studie ebenfalls eine COX-2 Expression bei allen untersuchten Plattenepithelkarzinomen (n=21) nachgewiesen werden. Zudem zeigten diese Tumoren im Mittel den zweithöchsten Verteilungsscore (2,86) sowie den höchsten Intensitätsscore (2,52) aller sechs untersuchten Tumorarten. Daher lag auch der mittlere COX-2 Score mit 7,29 an zweithöchster Stelle.

Einen hohen Anteil COX-2-exprimierender Tumoren wiesen zudem die Undifferenzierten Karzinome (96%) und Übergangsepithelkarzinome (85%) auf. Die Undifferenzierten Karzinome zeigten hierbei mit einem mittleren Verteilungsscore von 4,17 und einem mittleren COX-2 Score von 10,18 die mit Abstand höchsten Werte aller untersuchten Tumorarten.

Dieser insgesamt deutliche Trend intranasaler Karzinome zu einer häufigen und ausgeprägten Expression des COX-2 Enzyms wurde von Seiten der Adenokarzinome gebrochen, da sich hier nur 61% der 23 Proben als COX-2-positiv darstellten. Zudem wiesen diese Proben im Mittel lediglich 5-25% COX-2-positive Zellen (Mittelwert Verteilungsscore 2,0) auf. Dieses Ergebnis ähnelt den Befunden aus einer publizierten Studie, die 73% COX-2-positive Adenokarzinome nachwies (KLEITER et al., 2004). Die Resultate unterschieden sich jedoch deutlich von den Ergebnissen einer humanmedizinischen Studie, in der Adenokarzinome signifikant höhere COX-2 Level im Vergleich zu Plattenepithelkarzinomen aufwiesen. Eine mögliche Ursache für solche Speziesunterschiede könnten beispielsweise Einflüsse durch unterschiedliche Tumorpromotoren und eine differierende Tumorgenese darstellen, da die in der Humanmedizin bedeutsamen Promotoren wie Tabakrauch oder Holzstaub bei Hunden eine geringere Rolle spielen (HOLMILLA et al., 2008). Die Beurteilung der in der Veterinärmedizin zugrunde liegenden Ursachen ist jedoch erst durch umfangreiche, gezielte Studien hinsichtlich dieser Fragestellung möglich. In den drei veterinärmedizinischen Studien waren die Prozentzahlen COX-2-positiver Adenokarzinome als auch der Anteil positiver Zellen, soweit berichtet, unterschiedlich. Dabei erwiesen sich in einer Studie 6 (von 6) Proben und in zwei Studien 8 (von 11 bzw. 10) Proben als COX-2-positiv mit einem mittleren Anteil COX-2-positiver Zellen von 39,5% (Spannweite 0% bis 90%) (BORZACCHIELLO et

al., 2004; KLEITER et al., 2004; IMPELLIZERI und ESPLIN, 2007). Somit lagen die Befunde der vorliegenden immunhistochemischen Studie unter diesem Wert.

Da bisher keine Erkenntnisse bezüglich einer COX-2 Expression bei intranasalen Sarkomen vorlagen, existierte keine unmittelbare, das heißt veterinärmedizinische, Vergleichsgrundlage. Es zeigte sich in dieser Studie, dass sich die COX-2 Expression stark zwischen Chondrosarkomen und Karzinomen unterschied, da bei ersteren lediglich 41% positive Proben im Vergleich zu 85% positiven Karzinomen zu verzeichnen waren. Dieser Trend verhielt sich analog zu zahlreichen publizierten Erkenntnissen über die COX-2 Expression unterschiedlicher Tumorarten aus zahlreichen Lokalisationen, bei denen sich bereits mehrfach deutliche Unterschiede zwischen Karzinomen und Sarkomen dargestellt hatten (MOHAMMED et al., 2003). Diese Publikationen zeigten, dass nur wenige Sarkom-Subtypen, beispielsweise Fibro- und Osteosarkome, Hinweise auf eine vermehrte Expression des COX-2 Enzyms aufwiesen (MOHAMMED et al., 2003). In der vorliegenden immunhistochemischen Studie konnte ebenfalls lediglich ein geringer Anteil COX-2-positiver Zellen (mittlerer Verteilungsscore von 1,5) und eine geringe COX-2 Intensität innerhalb der positiven Tumoren (mittlerer Intensitätsscore von 1,33) festgestellt werden. Somit lag auch der COX-2 Score mit 3,33 am niedrigsten im Vergleich zu allen untersuchten Tumorarten.

Publizierte Daten zur COX-2 Expression bei kaninen Ästhesioneuroblastomen fehlten bisher ebenfalls, zudem konnten in dieser Studie lediglich fünf von 27 histologisch Ästhesioneuroblastom-verdächtiger Proben immunhistochemisch als solche bestätigt werden. Dies ermöglichte keine umfassende Beurteilung dieser eher seltenen Tumorart. In der vorliegenden Studie wiesen vier von fünf Ästhesioneuroblastome eine COX-2 Expression auf, wobei der mittlere Verteilungs- und Intensitätsscore im Bereich der Adeno- und Übergangsepithelkarzinome lag.

Im Allgemeinen wurde nach statistischer Auswertung deutlich, dass sich die tumorart-spezifischen Unterschiede insbesondere in der Verteilung der COX-2 Expression und weniger in deren Intensität darstellten. Bezüglich der jeweiligen Verteilungsscores konnten statistisch signifikante Unterschiede zwischen Undifferenzierten Karzinomen und Adenokarzinomen, Übergangsepithelkarzinomen

sowie Chondrosarkomen als auch zwischen Chondrosarkomen und Plattenepithelkarzinomen nachgewiesen werden. Besonders deutlich zeigten sich hierbei die Unterschiede zwischen Undifferenzierten Karzinomen und Adenokarzinomen sowie Chondrosarkomen, die sich durch einen p-Wert $<0,0001$ äußerten.

Im Gegensatz dazu waren keine signifikanten Unterschiede der jeweiligen Intensitätsscores aller COX-2-positiven Proben der verschiedenen Tumorarten zu ermitteln. Dabei ist zu bedenken, dass COX-2-negative Tumoren, wie sie insbesondere bei Chondrosarkomen vorkamen, nicht in letztere Auswertung einbezogen wurden und sich die Auswertung daher nur auf eine Fallzahl von insgesamt 87 Proben bezog.

Diese Resultate könnten für die Behandlung mit COX-2 Inhibitoren und deren Therapieerfolg eine entscheidende Rolle spielen.

Insgesamt wurde ein Trend zur negativen Korrelation zwischen den in der Literatur beschriebenen Prognosen für die jeweiligen Tumorarten und der tumorart-spezifischen COX-2 Expression auffällig. So wird beispielsweise den nachweislich sehr ausgeprägt COX-2-exprimierenden Plattenepithelkarzinomen eine sehr ungünstige Prognose nachgesagt, während für Chondrosarkome und Adenokarzinome tendenziell die beste Prognose bei gleichzeitig geringster COX-2 Expression postuliert wird. Inwieweit dies im klinischen Alltag reproduzierbar ist und eine reelle Korrelation darstellt, sollte in zukünftigen Untersuchungen evaluiert werden, insbesondere, da auf diese Weise Therapieentscheidungen und -protokolle beeinflusst werden könnten. Beispielsweise wäre es denkbar, dass Tumoren mit nachweislich starker COX-2 Expression durch einen möglichst frühzeitigen NSAID-Einsatz am stärksten beeinflusst werden könnten und so die Prognose der Patienten deutlich optimierbar wäre.

Hingegen könnte sich die NSAID-Gabe bei einem Großteil der Chondrosarkom-Patienten vorwiegend auf einen Einsatz als Analgetikum und Antiphlogistikum beschränken, während ein antitumoröser Einsatz aufgrund der geringen Anzahl und Intensität einer tumoreigenen COX-2 Expression weniger erfolgsversprechend sein könnte. Jedoch sind die Einflüsse COX-unabhängiger Effekte einer NSAID-Gabe noch unzureichend bekannt und könnten daher ebenfalls einen therapeutischen Einfluss nehmen. Vorsicht ist auch bei voreiliger Beurteilung der Prognose bei

entsprechender Tumorart geboten, da jeder Tumor immer individuell zu sehen ist und es sich bei publizierten Prognosen immer nur um Mittelwerte handeln kann. Somit sollte einzig anhand der vorliegenden Tumorart keine Entscheidung über den Nutzen einer Therapie gefällt werden.

Die ursächliche Grundlage der tumorart-spezifischen Unterschiede in der COX-2 Expression ist zur Zeit nicht bekannt, jedoch scheinen in der Genese der unterschiedlichen Tumorarten verschiedene molekulare Mechanismen eine Rolle zu spielen, die diese Unterschiede (partiell) bedingen könnten (HOLMILLA et al., 2008). Für eine umfassende Bewertung besteht jedoch eine zu umfangreiche Wissenslücke, deren Minderung durch weiterführende Untersuchungen wünschenswert wäre.

4.2 Klinische Anwendungsstudie

4.2.1 Patientengut

Alter

Im Vergleich zu den Literaturangaben, die über ein mittleres bzw. medianes Patientenalter von 8 bis 11 Jahren berichten, waren auch in dieser Untersuchung überwiegend ältere Patienten mit einem medianen Alter von 10 Jahren vertreten (Streubreite 2 bis 14 Jahre) (MAC EWEN et al., 1977; EVANS et al., 1989; LA DUE et al., 1999; LANA et al., 2004; RASSNICK et al., 2006; YOON et al., 2007; KONDO et al., 2008; MELER et al., 2008, SCHWIETZER, 2008). In einer Untersuchung von PATNAIK (1989) zeigte sich eine von der Tumorart beeinflusste Altersstruktur, da Chondrosarkom-Patienten mit einem mittleren Alter von sieben Jahren deutlich jünger waren als Karzinom-Patienten mit einem mittleren Alter von neun Jahren. In der Patientengruppe der vorliegenden Studie war ein noch deutlicherer Altersunterschied zwischen Patienten mit Sarkomen (median 8 Jahre) und Patienten mit Karzinomen (median 12 Jahre) festzustellen, welcher beim differenzierten Vergleich zwischen Chondrosarkom- und Adenokarzinom-Patienten noch eindrücklicher wurde (median 7 bzw. 13 Jahre). Bei Betrachtung der individuellen Altersverteilung der Sarkom-Patienten (n=9) fiel jedoch auf, dass eine große Streubreite von 2 bis 14 Jahren vorlag. Insgesamt zeigten zwei Patienten ein sehr junges Alter von zwei bzw. drei Jahren, zwei Patienten ein mittleres Alter von acht bzw. neun Jahren und vier Patienten ein hohes Alter von 10 bis 14 Jahren.

Damit verstärkte sich der Verdacht auf eine unterschiedliche Altersstruktur bei Auftreten der unterschiedlichen Tumorarten, welche beispielsweise durch Unterschiede der auf die Tumorgenese Einfluss nehmenden Initiatoren und Promotoren sowie der beteiligten molekularen Mechanismen bedingt sein könnte. Die kausalen Zusammenhänge der unterschiedlichen Altersstruktur der Tumorarten sind jedoch weitestgehend unbekannt und bieten daher keine Grundlage zur Beurteilung dieses Phänomens.

Aufgrund der Lokalisation ist zu vermuten, dass exogene Kanzerogene, wie in der ätiologischen Beurteilung erwähnt (siehe Kapitel 2.1.3), vermehrt Einfluss auf die Entwicklung von Nasenschleimhauttumoren nehmen, während bei Sarkomen, die in der Nasenhöhle häufig von den tieferliegenden Chondroblasten/-zyten ausgehen, interne Faktoren eine größere Rolle spielen könnten. Aufgrund des teilweise sehr

jungen Alters der Sarkom-Patienten sind genetische Ursachen oder auch chronische Entzündungen, wie sie in anderen Lokalisationen und Spezies eine wichtige Rolle in der Sarkom-Entwicklung zu spielen scheinen, denkbar. Eine wissenschaftlich-basierte Beurteilung dieser Fragestellung ist aufgrund der eingeschränkten Datenlage jedoch nicht möglich.

Geschlecht

In dieser Studie lag kein bedeutsamer Geschlechtsunterschied vor, da 14 männliche (sechs kastriert) und elf weibliche (sechs kastriert) Patienten involviert waren. Somit war eine Übereinstimmung mit den Literaturangaben festzustellen, in denen ebenfalls keine Geschlechtsprädisposition für Nasentumoren vorlag (MADEWELL et al., 1976; MAC EWEN et al., 1977; EVANS et al., 1989; MORRIS et al., 1994; RASSNICK et al., 2006; SCHWIETZER, 2008).

Gewicht

Das mediane Gewicht der Studienpatienten war mit 28 kg und einer Streubreite von 5,5 bis 60 kg vergleichbar dem medianen Gewicht von 26 kg und der Streubreite von 4 bis 56 kg in einer größeren Hundepopulation von 130 Nasentumor-Patienten (LA DUE et al., 1999).

Rasse

Vergleichbar mit publizierten Daten (NORTHROP et al., 2001; MELLANBY et al., 2002) konnten in dieser Studie alle Patienten meso- oder dolichocephalen Rassen zugeordnet werden, wobei große Hunde (>20 kg KG) einen nahezu gleichen Anteil wie kleine Hunde einnahmen. Eine mögliche Ursache für ersteres könnte die größere intranasale Schleimhautoberfläche bei meso- und dolichocephalen Rassen darstellen, die eine größere Einwirkungsfläche für exogene kanzerogene Stoffe bietet (BUKOWSKI et al., 1998; REIF et al., 1998). Rassehunde waren mit einem Anteil von etwa zwei Dritteln stärker vertreten als Mischlingshunde, wobei dieser Befund mit der Verteilung in der deutschen Hundepopulation korreliert (69% Rassehunde²³). Vergleichbar zu einzelnen Literaturangaben stellten auch in unserer Untersuchung Golden und Labrador Retriever mit 20% (n=5) den größten Anteil dar (ADAMS et al., 1998; YOON et al., 2007). Weiterhin kam lediglich der Deutsche Jagdterrier (n=2) in

²³ nach VDH Geschäftsbericht 2009

mehr als einem Fall vor. Trotz einer führenden Position in der deutschen Hundepopulation²³ und einer möglichen Prädisposition für Nasentumoren (MELLANBY et al., 2002; YOON et al., 2007) war der Deutsche Schäferhund in dieser Studie nicht überrepräsentiert. Obwohl die ersten drei Ränge der beliebtesten Hunderassen in Deutschland seit Jahren von dolichocephalen Rassen (Schäferhund, Dackel, Deutsch Drahthaar)²⁴ eingenommen werden, fanden sich diese in der vorliegenden Studie nur in einem Fall wieder. Aber auch die Retriever-Rassen genießen einen hohen Beliebtheitsgrad in Deutschland und nehmen dementsprechend einen hohen Anteil an der Rassehundpopulation mit etwa 656.000 Hunden ein (Rang 4 der deutschen Hundepopulation: Retriever-Rassen²⁴). Ein möglicher Einflussfaktor für diese fehlende Verhältnismäßigkeit könnte, neben rassespezifischen und zufallsbedingten Einflussfaktoren, die vermehrte Nutzung der drei erstgenannten Rassen als Schutz- und Jagdhunde darstellen. Im Gegensatz dazu werden Retriever-Rassen meist als Familienhunde gehalten, so dass auch emotionale Faktoren in der Bereitschaft zu einer Tumorthherapie eine Rolle spielen könnten. Die Rasseverteilung in dieser Studie kann aufgrund der geringen Patientenzahl und weiterer Einflussfaktoren wie Rassetrends und einem selektierten Überweisungsklientel nur hinweisend sein. Eine Aussage über tatsächliche Inzidenzen oder Rasseprädispositionen kann auf diese Weise nicht getroffen werden.

4.2.2 Klinische Initialbefunde

Die Dauer der klinischen Symptomatik bis zum Behandlungsbeginn lag in dieser Studie bei median zwölf Wochen. Für die Beurteilung wurde nicht der Zeitraum bis zur Diagnosestellung gewählt, da es sich bei den meisten Patienten um Überweisungsklientel handelte und daher die (Verdachts)Diagnose zu einem früheren, meist nicht reproduzierbaren Zeitpunkt gestellt wurde. Dieser evaluierte Wert korrelierte eng mit Angaben aus der Literatur, die übereinstimmend einen vergleichbaren Zeitraum von 2-3 Monaten bis zur Diagnosestellung angeben (BRADLEY und HARVEY, 1973; MADEWELL et al., 1976; MAC EWEN et al., 1977; MELLANBY et al., 2002; RASSNICK et al., 2006; GIEGER et al., 2008; MARUO et al., 2010). Aufgrund dieser großen Streubreite von zwei bis achtzig Wochen lagen individuelle Ergebnisse teilweise deutlich oberhalb des Medianwertes, wie beispielsweise bei Patient Nr. 11, der über 80 Wochen Symptome eines

²⁴ nach VDH Welpenstatistik 2009

gehirninvasiven Plattenepithelkarzinoms aufwies. Auch dies deckt sich mit den Literaturangaben, die Streubreiten von bis zu 730 Tagen (104 Wochen) angeben (GIEGER et al., 2008). Dies zeigt zum einen, dass sich in den letzten Jahrzehnten keine deutliche Verbesserung bezüglich des Diagnosezeitpunkts bzw. Therapiebeginns ergeben hat und zum anderen, dass bei einigen Patienten eine sehr langsame Symptomprogression vorzuliegen scheint. Letzteres weist nicht offensichtlich auf eine Indikation zu einer weiterführenden Diagnostik hin, so dass die Diagnosestellung mitunter sehr spät erfolgt. Insgesamt war jedoch auffällig, dass trotz eines Zeitraums von wenigen Monaten bis zum Diagnose- bzw. Behandlungszeitpunkt, überwiegend weit fortgeschrittene Tumoren vorlagen (PATNAIK, 1989). Dies könnte daran liegen, dass Nasentumoren häufig erst spät im Krankheitsverlauf deutliche klinische Symptome hervorrufen, was aufgrund des meist kaudal in der Nasenhöhle beginnenden Wachstums (WILLARD und RADLINSKY, 1999) erklärbar wäre, oder dass die initialen Symptome zunächst aufgrund ihres unspezifischen Charakters, wie Niesen oder serösem Nasenausfluss, missinterpretiert und unterschätzt werden. Auch das Vorliegen von hämorrhagischem Nasenausfluss bei 88% unserer Patienten zu Therapiebeginn deutete bereits auf eine fortgeschrittene Symptomatik hin. Somit wird deutlich, dass canine intranasale Tumoren weiterhin spät im Krankheitsverlauf diagnostiziert werden, wobei die kausalen Umstände dieser Tatsache nicht näher spezifiziert werden können.

Zwei Drittel der Patienten (68%) dieser klinischen Anwendungsstudie wurden mit Antibiotika und/oder Antiphlogistika vorbehandelt, von denen jedoch nur ein Drittel (35%) eine temporäre Verbesserung der Symptomatik entwickelte. Dies deckt sich weitestgehend mit Angaben aus der Literatur, in der eine Symptomverbesserung bei 28% der behandelten Patienten angegeben wird (GIEGER et al., 2008). Als Ursache für die temporäre Symptomverbesserung wird die Reduktion der sekundären bakteriellen Rhinitis angesehen (KESSLER, 2005). Aufgrund der Ausschlusskriterien für diese Studie erhielt kein Patient in den drei Monaten vor Studienbeginn längerfristig (>8 Tage) NSAIDs.

Somit bestand eine deutliche Diskrepanz zwischen Beobachtungen nach kurzfristiger, palliativer Behandlung mit NSAIDs, Glukokortikoiden und/oder Antibiotika im Vorfeld dieser Untersuchung und unseren Beobachtungen nach Meloxicam-Monotherapie, die bei drei Viertel der Patienten (75%) zu einer klinischen

Symptomverbesserung führte. Dies könnte darin begründet sein, dass der überwiegende Anteil vorbehandelter Hunde lediglich mit Antibiotika therapiert wurde (n=12), während nur sieben Hunde auch antiphlogistisch behandelt wurden. Vier von fünf mit NSAIDs vorbehandelte Patienten zeigten eine Linderung der klinischen Symptomatik, so dass eine palliative antiphlogistische Therapie erfolgsversprechender als eine antibiotische Therapie erscheint. Es ist somit kritisch zu überdenken, ob bei Nasentumor-Patienten im Allgemeinen die Indikation zu einem systemischen Antibiotika-Einsatz gegeben ist, da auch ohne deren Einsatz ein Symptommrückgang bei den meisten Patienten zu erzielen ist. Es ist noch unklar, in welchem Umfang eine bakterielle Rhinitis Anteil an der klinischen Symptomatik nimmt oder welchen Einfluss der Tumor selbst beziehungsweise dessen peritumoröse, nicht zwangsläufig bakterielle Entzündung ausübt.

Die häufigsten Symptome, die zur Konsultation einer Tierarztpraxis führten, umfassten in dem vorliegenden Patientengut, analog zu Literaturangaben, Nasenausfluss, Niesen und nasaler Stridor (NORTHRUP et al., 2001; GIEGER et al., 2008). Bei einem Großteil der Patienten (22/25 Hunden, 88%) waren zudem hämorrhagischer Nasenausfluss oder massive Epistaxis ausschlaggebend, was sich ebenfalls mit Daten aus der Literatur (83% der Patienten) deckt (GIEGER et al., 2008). Die Hunde der vorliegenden Studienpopulation wiesen überwiegend purulent-hämorrhagischen Nasenausfluss in mittelgradiger Ausprägung auf. Dies zeigt, dass eine Konsultation des Tierarztes häufig erst nach Auftreten von hämorrhagischem Nasenausfluss erfolgt, da die eher harmlos erscheinende Symptomatik mit Niesen und mukösem oder purulentem Nasenausfluss vermutlich nicht als Anzeichen eines Tumorgeschehens erkannt wird und aufgrund einer Assoziation mit einer üblichen Erkältungssymptomatik als wenig gravierend empfunden wird.

Bei Patient Nr. 22, dem einzigen Studienpatienten ohne Nasenausfluss, stellte eine subkutane periokuläre Zubildung den Vorstellungsgrund dar. Dieses Symptom wird erwartungsgemäß von den Patientenbesitzern als Indikation zur Vorstellung bei einem Tierarzt angesehen, jedoch tritt eine solche Tumorextension oft erst spät im Krankheitsverlauf auf oder wird initial teilweise nicht erkannt, da zunächst meist nur unscheinbare, flache Zubildungen entstehen, die insbesondere unter dem Fell langhaariger Hunde kaum auffallen.

Neurologische Symptome lagen initial nur bei drei Patienten vor, obwohl bereits acht Patienten eine Lyse der kribriiformen Platte mit Invasion in den bulbus olfactorius aufwiesen. Dieses Phänomen wird ebenfalls in der Literatur bei einer größeren Anzahl von Nasentumor-Patienten beschrieben (NORTHRUP et al., 2001). Ein Zusammenhang zwischen klinischer Präsentation und Tumorstadium kann daher nicht ohne weiteres hergestellt werden.

Die Blutuntersuchung zeigte überwiegend gering ausgeprägte, unspezifische Veränderungen in Form einer Leukozytose, Anämie oder Thrombozytose, wie man sie häufig bei Tumorgeschehen findet (WITHROW und VAIL, 2007).

4.2.3 Tumorhistologie und tumoreigene COX-2 Expression

Tumorhistologie

Korrelierend zu publizierten Daten litten die Patienten dieser Studie zu 60% an intranasalen Karzinomen, wobei hier im Gegensatz zu den Literaturangaben Undifferenzierte Karzinome im Vergleich zu Adenokarzinomen mit 28% zu 20% geringfügig überwogen (MADEWELL et al., 1976; MAC EWEN et al., 1977; CONFER et al., 1978; PATNAIK, 1989; RUSSO et al., 2000; LEFEBVRE et al., 2005). In der Häufigkeit folgten, ebenfalls korrelierend zu publizierten Daten, mit 36% maligne mesenchymale Tumoren (LEFEBVRE et al., 2005). Bei den intranasalen Sarkomen überwiegt laut Literatur das Chondrosarkom am deutlichsten (PATNAIK, 1989; KONDO et al., 2008), was in der vorliegenden Studie mit fünf von neun Patienten nur andeutungsweise zutraf. Jedoch war die Patientengruppe zu klein, um eine umfassende Beurteilung zu erlauben.

Im Allgemeinen zeigte sich in dieser klinischen Anwendungsstudie, dass eine sichere Diagnosestellung, vor allem bei mäßig differenzierten Tumorformen, eine große fachliche als auch methodische Herausforderung darstellt und nicht in allen Fällen zweifellos möglich ist. Histologische Kriterien an HE-Schnitten stellen die Grundlage für eine histologische Diagnose dar, jedoch ist in manchen Fällen zusätzlich eine immunhistochemische Untersuchung zur Einordnung der Tumorart notwendig. Hierbei erfolgt beispielsweise die Unterscheidung zwischen Zytokeratin positiven (v.a. Karzinome) oder Vimentin positiven (v.a. Sarkome) Tumoren. Diese Zusatzuntersuchung wurde beispielsweise bei Patient Nr. 21 durchgeführt, da aufgrund der morphologischen Kriterien in den HE-Schnitten zunächst lediglich von

einem wenigdifferenzierten malignen Blastom gesprochen werden konnte. Die positive Reaktion auf Vimentin im Rahmen der immunhistochemischen Untersuchung führte anschließend zur Diagnose eines Undifferenzierten Sarkoms, während eine Untersuchung auf endotheliale Zellen negativ verlief. Bei diesen undifferenzierten Tumoren kann jedoch auch mit solchen Nachuntersuchungen teilweise keine ausreichende diagnostische Sicherheit bezüglich der Ursprungszellart erzielt werden, so dass in oben genanntem Fall beispielsweise sowohl Chondroblasten als auch Fibro- oder Osteoblasten als Ursprungszellart möglich sind, wohingegen ein endothelialer Ursprung durch die Untersuchung weitestgehend ausgeschlossen werden konnte. Somit kann die Gruppe der undifferenzierten Tumoren sehr heterogen in ihrer Ursprungszellart, der Tumorgenese und den molekularen Grundlagen sein, was sich möglicherweise auch in einer unterschiedlichen therapeutischen Sensitivität äußert.

Eine besondere Schwierigkeit stellt die Diagnostik der Ästhesioneuroblastome dar, da diese an HE-Schnitten beispielsweise Undifferenzierten Karzinomen oder Rundzelltumoren stark ähneln können. Histologische Kriterien für die Zuordnung der Tumorart umfassen drei wesentliche Punkte, die jedoch nicht pathognomonisch sind (THOMPSON, 2009; VON BOMHARD, 2010):

- 1) palisadenförmige Anordnung der Tumorzellen im perivaskulären Bereich
- 2) rosettenförmige Wuchsform (meist „Pseudorosetten“)
- 3) fibrovaskuläres Stroma mit Tumorzellnestern

Aufgrund der diagnostischen Problematik wird häufig eine immunhistochemische Untersuchung angeschlossen, die allerdings ebenfalls keine absolute diagnostische Sicherheit bietet und tiermedizinisch noch nicht umfassend untersucht ist. Im Rahmen der Immunhistochemie werden insbesondere Färbungen auf Synaptophysin, neuronenspezifische Enolase (NSE), S-100, Zytokeratin und Neurofilamente durchgeführt, die bei Ästhesioneuroblastomen häufig positiv ausfallen (THOMPSON, 2009; VON BOMHARD, 2010). Die überwiegend negativen Resultate dieser immunhistochemischen Untersuchung führten bei Patient Nr. 1, nach anfänglichem Verdacht auf ein Ästhesioneuroblastom anhand der HE-Schnitte, retrospektiv zur Änderung der ursprünglichen Diagnose und ließen ein Undifferenziertes Karzinom wahrscheinlicher erscheinen. Trotz alledem ist in solchen Fällen, wie auch bei Patient Nr. 21, keine absolute diagnostische Sicherheit zu erlangen.

Prognostischer Einfluss der Tumorart

Die progressionsfreie Zeit (PFZ) und Überlebenszeit stellten sich in der Patientengruppe dieser klinischen Anwendungsstudie sehr unterschiedlich dar, was auch bei einer Unterscheidung hinsichtlich der Tumorart ersichtlich wurde (siehe **Tabelle 10-23** und **Tabelle 10-24** im Anhang).

Innerhalb dieser Studie fand sich ein Patient ohne eine Symptomverbesserung als auch einzelne Patienten mit sehr langen progressionsfreien Zeiten. Vier Patienten wiesen zum Studienende nach 365-468 Tagen noch keine Symptomprogression auf und wurden daher für die Auswertung zensiert. Die große Streubreite bezüglich der progressionsfreien Zeit zeigte sich auch in einer ähnlich aufgebauten Anwendungsstudie von SCHWIETZER (2008), bei der eine Streuung von 5-639 Tagen vorlag.

Im Rahmen der statistischen Auswertung konnte für die Gruppe der Adenokarzinome und Chondrosarkome ein signifikanter Einfluss ($p=0,020$ bzw. $p=0,030$) auf die progressionsfreie Zeit nachgewiesen werden, welcher bei allgemeiner Betrachtung von Karzinomen und Sarkomen nicht auffällig wurde. In Bezug auf die Überlebenszeit war ein signifikanter Unterschied jedoch nicht erkennbar. Basierend auf der geringen Fallzahl kann lediglich von einer Tendenz zu einer kürzeren progressionsfreien Zeit bei Adenokarzinom- und Chondrosarkom-Patienten gesprochen werden. Zudem erscheint dies aufgrund der überwiegend guten Differenzierung dieser Tumoren mit häufig einhergehender geringerer Malignität und einem weniger aggressiven biologischen Verhalten unerwartet.

Zahlreiche Publikationen konnten jedoch einen prognostischen Einfluss der Tumorart nachweisen, da sich signifikant längere Überlebenszeiten bei Sarkomen, insbesondere Chondrosarkomen, im Vergleich zu Karzinomen zeigten (MAC EWEN et al., 1977; ADAMS et al., 1987; EVANS et al., 1989; MC ENTEE et al., 1991; THEON et al., 1993; KONDO et al., 2008). Dieser Unterschied konnte wiederum nicht in allen Publikationen, insbesondere bei Einsatz einer palliativen Bestrahlungstherapie, bestätigt werden (MORRIS et al., 1994; MELLANBY et al., 2002; YOON et al., 2007; ADAMS et al., 2009).

Die Sarkom-Patienten dieser Studie wiesen Überlebenszeiten von median 214 Tagen auf (Chondrosarkom-Patienten median 170 Tage; Sonstige Sarkome

median 309 Tage), während Karzinom-Patienten median 216 Tage (Adenokarzinom-Patienten median 211 Tage; Sonstige Karzinome median 197 Tage) überlebten. Somit konnte weder eine prognostisch positive Tendenz bei Sarkomen (n=9) im Allgemeinen, noch Chondrosarkomen im Speziellen (n=5) anhand der kleinen Fallzahlen dieser Studie bestätigt werden. Im Gegenteil, Chondrosarkom-Patienten wiesen die kürzesten medianen Überlebenszeiten auf, wobei sich diese Unterschiede nicht als statistisch signifikant darstellten. Eine statistische Auswertung war jedoch, wie bereits erwähnt, aufgrund der geringen Fallzahlen nur von eingeschränkter Bedeutung.

In der Arbeit von SCHWIETZER (2008) wurde berichtet, dass Sarkom-Patienten (n=10, davon ein Chondrosarkom) mit einer medianen Überlebenszeit von 57 Tagen deutlich kürzer überlebten als Karzinom-Patienten (n=10) mit 156 Tagen, wobei der Chondrosarkom-Patient bereits nach 42 Tagen verstorben war. Inwieweit dies durch das in beiden Studien angewendete hypofraktionierte Bestrahlungsprotokoll (Gesamtbestrahlungsdosis 24 Gy) bedingt war, entzieht sich einer fundierten Beurteilung. Jedoch ist aus anderen Lokalisationen (beispielsweise Gliedmaßen oder Mundhöhle) bekannt, dass Sarkome im Vergleich zu Karzinomen bei kurativen Bestrahlungsprotokollen von höheren Gesamtbestrahlungsdosen (über 50 Gy) profitieren (WITHROW und VAIL, 2007). Es existieren jedoch auch für intranasale Sarkome Berichte über Langzeiterfolge nach palliativer Bestrahlung (MORRIS et al., 1994; SCHWIETZER et al., 2005; SCHWIETZER, 2008). So erreichten auch in der vorliegenden Studie zwei von drei Patienten mit Undifferenzierten Sarkomen Überlebenszeiten von über einem Jahr.

Der einzige Plattenepithelkarzinom-Patient dieser Studie musste bereits nach 74 Tagen aufgrund hochgradiger neurologischer Symptome euthanasiert werden. Dies liegt deutlich unter den bisher publizierten medianen Überlebenszeiten bei Plattenepithelkarzinom-Patienten von 180 bzw. 165 Tagen, wobei sich diese Angaben auf eine kurative Bestrahlungstherapie bezogen (ADAMS et al., 1987; CORREA et al., 2003). Bei diesem Patienten lagen jedoch zwei, laut Literatur, prognostisch negative Faktoren vor: die Tumorart (Plattenepithelkarzinom) und das Tumorstadium (IV) (ADAMS et al., 1987; ADAMS et al., 2009). Zudem wies dieser Patient die längste Dauer der klinischen Symptomatik (80 Wochen) auf.

Von den zwei Patienten mit einem Übergangsepithelkarzinom zeigte ein Patient eine Überlebenszeit von 184 Tagen, während der zweite Patient nach 461 Tagen zum Studienendpunkt zensiert werden musste. Bisher existieren nur Vergleichswerte aus einer Fallstudie an sechs Hunden nach kurativer Megavoltage-Bestrahlung. In dieser Fallstudie lag die mediane Überlebenszeit bei 165 Tagen (Streubreite 30-330 Tage) (CORREA et al., 2003), so dass die beiden Patienten der vorliegenden Studie nach hypofraktionierter Bestrahlung zufriedenstellende Überlebenszeiten aufwiesen.

Allgemein betrachtet zeigten die Studienpatienten mit Plattenepithelkarzinomen, Übergangsepithelkarzinomen und Undifferenzierten Karzinomen, im Gegensatz zu einer Untersuchung von ADAMS et al. (1987), eine vergleichbare Überlebenszeit (median 197 Tage) wie die Adenokarzinom-Patienten (median 211 Tage), wobei der Vergleich durch die geringen Fallzahlen nur eine eingeschränkte Aussagekraft besitzt. Aus der Humanmedizin ist bekannt, dass Patienten mit gut differenzierten Tumoren signifikant längere Überlebenszeiten aufweisen, wobei Karzinome strahlensensibler erscheinen als Sarkome (OBERHÄNSLI, 2003). Dies konnte somit in der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden, wird aber in größeren tiermedizinischen Studien ebenfalls berichtet. Daher sind die Ergebnisse dieser Untersuchung möglicherweise nicht repräsentativ oder wurden durch die adjuvante COX-2 Hemmung beeinflusst.

Tumoreigene COX-2 Expression

Im Patientengut dieser Studie (n=25) fanden sich 21 Tumoren (84%) mit COX-2 Expression. Um eine Vergleichsgrundlage zu den bisher publizierten Erkenntnissen bezüglich einer COX-2 Expression bei Karzinomen zu schaffen, ist ein Vergleich der Ergebnisse aller Karzinom-Patienten mit den Literaturangaben notwendig (siehe **Tabelle 10-25** im Anhang). Dabei zeigte sich, dass von den 15 Karzinomen dieser Studie 13 Tumoren (87%) eine COX-2 Expression aufwiesen. Somit ist festzustellen, dass dieser Prozentsatz mit den Resultaten der drei Publikationen 71-87% vergleichbar ist (BORZACCHIELLO et al., 2004; KLEITER et al., 2004; IMPELLIZERI und ESPLIN, 2007). Jedoch erschweren die Unterschiede der Beurteilungskriterien den direkten Vergleich. Dabei werden zum einen in zwei Publikationen Übergangsepithelkarzinome und Undifferenzierte Karzinome in einer Gruppe zusammengefasst (KLEITER et al., 2004; IMPELLIZERI und ESPLIN, 2007), zum

anderen werden in allen drei Publikationen unterschiedliche Kriterien zur Beurteilung einer COX-2 Expression angewendet. BORZACCHIELLO et al. (2004) beurteilten lediglich die Intensität der COX-2 Färbung und unterteilten in fehlend (0), gering- (+), mittel- (++) und hochgradig (+++). Im Gegensatz dazu verwendeten KLEITER et al. (2004) ein vergleichbares Beurteilungsschema wie in unserer Studie, mit einer leicht differierenden Unterteilung der Scores. IMPELLIZERI und ESPLIN (2007) wiederum gaben lediglich den prozentualen Anteil COX-2 positiver Zellen, vergleichbar unserem Verteilungsscore, an.

Das Ergebnis von 84% COX-2-positiven Tumoren in dieser klinischen Anwendungsstudie lag über dem Resultat der immunhistochemischen Studie von 76%. Da die Tumorarten in der klinischen Studiengruppe jedoch sehr heterogen waren und lediglich in geringen Fallzahlen vorlagen, ist ein Vergleich mit den Ergebnissen der Vorstudie nur eingeschränkt möglich. Dies gilt insbesondere, da mehrere Tumorarten, wie das Plattenepithelkarzinom, Übergangsepithelkarzinom, Osteosarkom und Ästhesioneuroblastom in der klinischen Anwendungsstudie nur in Einzelfällen vorlagen.

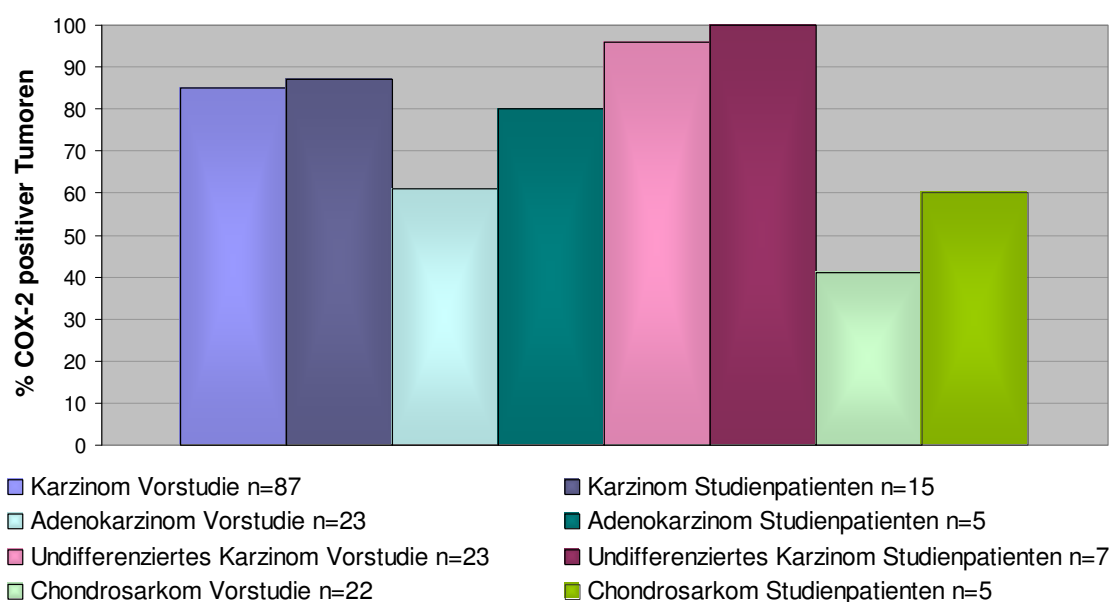
Betrachtet man trotz dieser genannten Einschränkungen die Karzinome im Allgemeinen, so sind vergleichbare Werte in der COX-2 Expression zwischen der Vorstudie mit 85% (74/87 Proben) und der klinischen Anwendungsstudie mit 87% (13/15 Proben) festzustellen. Aufgrund der geringen Zahl von Plattenepithelkarzinom- und Übergangsepithelkarzinom-Patienten in der klinischen Anwendungsstudie, sind im Speziellen nur die Ergebnisse der Adenokarzinome (61% bzw. 80%) und Undifferenzierten Karzinome (96% bzw. 100%) zwischen der Vorstudie und klinischen Anwendungsstudie miteinander zu vergleichen. Aufgrund der geringen Fallzahlen könnten aber auch hier die Resultate durch Zufallsereignisse beeinflusst sein.

Bei den Sarkomen stellte sich mit 78% (7/9 Proben) ebenfalls ein großer Anteil COX-2-positiv dar, wobei alle drei Undifferenzierten Sarkome sowie das Osteosarkom, aber lediglich drei von fünf Chondrosarkomen eine Expression aufwiesen. Somit lag der Mittelwert aller neun Sarkome deutlich über den Werten der Vorstudie für Chondrosarkome (41%). Trotz der geringen Fallzahlen, die keine umfassende Bewertung ermöglichen, scheint eine Tendenz erkennbar, dass auch

bei Sarkomen deutliche Unterschiede zwischen den Subtypen und insbesondere gut differenzierten sowie undifferenzierten Formen vorliegen. Vergleichswerte für kanine intranasale Osteosarkome oder Undifferenzierte Sarkome finden sich in der Literatur nicht. Appendikuläre Osteosarkome wiesen in zwei Untersuchungen eine COX-2 Expression in 23% bzw. 77% der Proben mit überwiegend schwacher bis moderater Intensität auf (GREENBERG et al., 2003; MULLINS et al., 2004), was sich auch bei dem Osteosarkom dieser klinischen Anwendungsstudie zeigte, da dieses mit einem COX-2 Score von 2,0 den geringsten Wert aller COX-2-positiven Tumorarten aufwies.

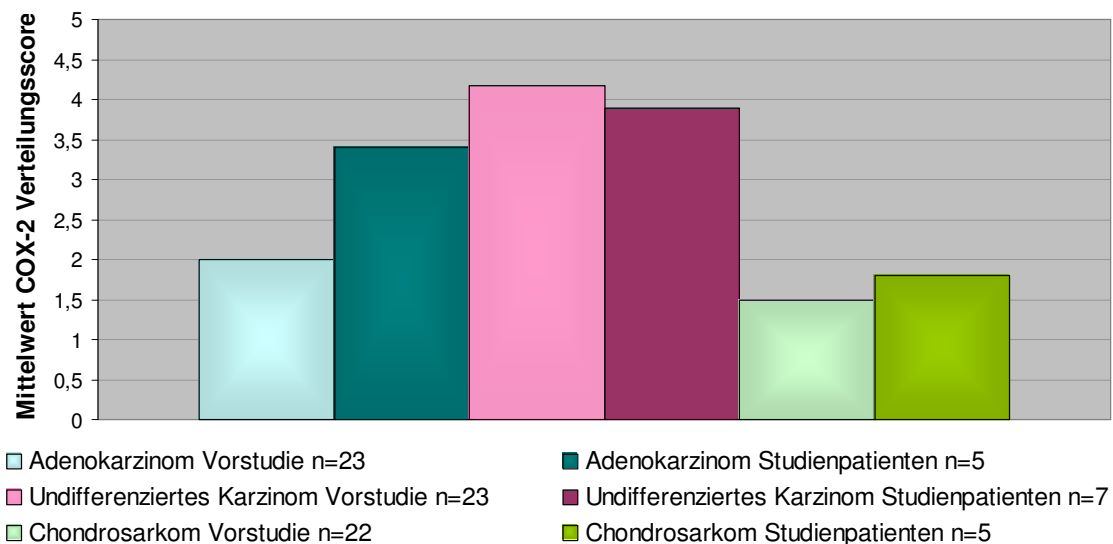
In **Abbildung 4-1** sind die Resultate COX-2-positiver Tumoren vergleichend zwischen der immunhistochemischen Vorstudie und der klinischen Anwendungsstudie graphisch gegenübergestellt. Dabei ist zu erkennen, dass sich trotz der geringen Fallzahlen in der Anwendungsstudie vor allem bei den Karzinomen im Allgemeinen und den Undifferenzierten Karzinomen im Speziellen sehr ähnliche Verhältnisse abzeichnen.

Abbildung 4-1: Vergleichende graphische Darstellung des prozentualen Anteils COX-2-positiver Karzinome, Adenokarzinome, Undifferenzierter Karzinome und Chondrosarkome zwischen der immunhistochemischen Vorstudie und der klinischen Anwendungsstudie



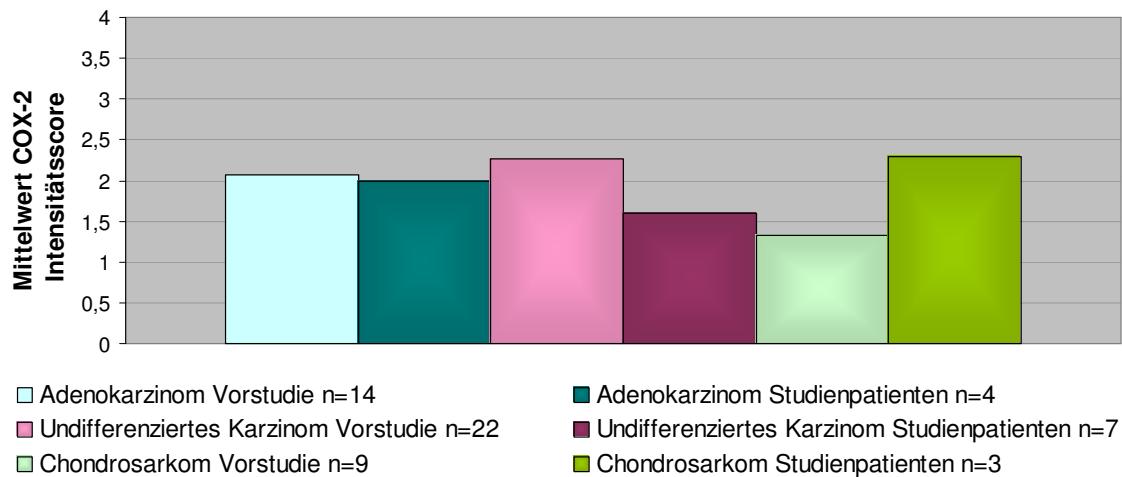
Der Mittelwert des COX-2 Verteilungsscores wies bei den Undifferenzierten Karzinomen im Vergleich zwischen der klinischen Anwendungsstudie und der immunhistochemischen Studie ebenfalls einen vergleichbaren Wert von 3,9 bzw. 4,2 auf, während sich die Adenokarzinome mit 3,4 bzw. 2,0 deutlicher unterschieden. Ebenfalls vergleichbar verhielten sich die Resultate der Chondrosarkome, die mit 1,8 bzw. 1,5 nur geringfügig differierten. Dieser Vergleich ist in **Abbildung 4-2** graphisch dargestellt.

Abbildung 4-2: Vergleichende graphische Darstellung der mittleren COX-2 Verteilungsscores der Adenokarzinome, Undifferenzierten Karzinome und Chondrosarkome der immunhistochemischen Vorstudie und der klinischen Anwendungsstudie



In Bezug auf die Intensität der COX-2 Expression zeigte sich nur ein geringfügiger Unterschied zwischen Adenokarzinomen der immunhisto-chemischen Vorstudie und der klinischen Anwendungsstudie mit einem Mittelwert von 2,1 bzw. 2,0. Einen Unterschied wiesen hingegen die Resultate der Chondrosarkome und Undifferenzierten Karzinome mit einem Mittelwert von 1,3 bzw. 2,3 sowie 2,3 bzw. 1,6 auf. Diese Unterschiede sind in **Abbildung 4-3** graphisch dargestellt.

Abbildung 4-3: Vergleichende graphische Darstellung der mittleren COX-2 Intensitätsscores COX-2-positiver Adenokarzinome, Undifferenzierter Karzinome und Chondrosarkome der immunhistochemischen Vorstudie und der klinischen Anwendungsstudie

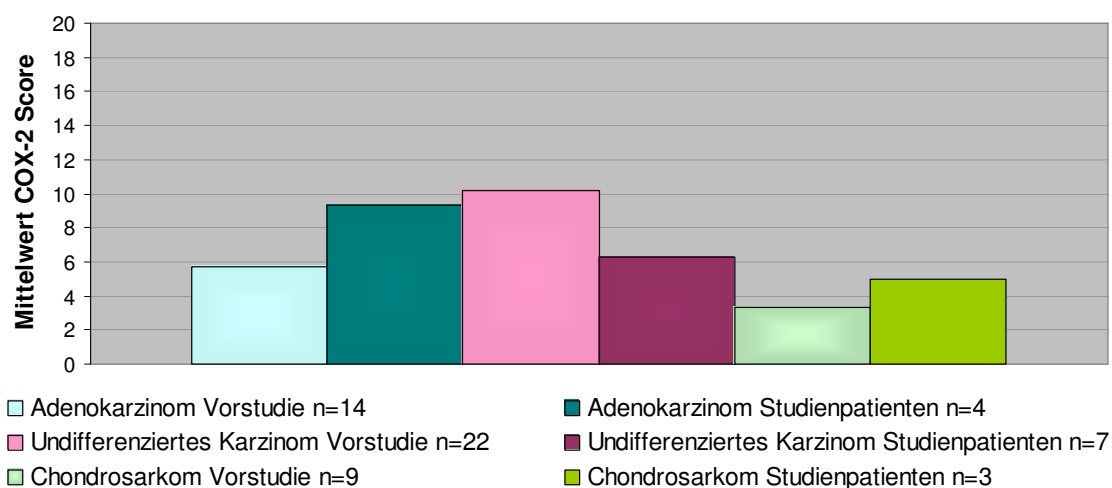


Der Mittelwert des COX-2 Scores, dem Produkt aus Verteilungs- und Intensitätsscore, lag bei den COX-2-positiven Tumoren der klinischen Anwendungsstudie allgemein im Bereich von 4,3-6,9, so dass dieser in der immunhistochemischen Vorstudie mit 5,0-7,3 nur geringfügig höher lag. Die höchsten Mittelwerte in der klinischen Anwendungsstudie wiesen dabei die Adenokarzinome (9,3) und das Übergangsepithelkarzinom (8,0) auf, während in der immunhistochemischen Vorstudie die Undifferenzierten Karzinome (10,2) den höchsten Wert zeigten. Insgesamt konnten für Karzinome (6,9 bzw. 7,3) höhere Mittelwerte des COX-2 Scores festgestellt werden als für Sarkome (4,3 bzw. 3,3). Dabei waren jedoch die bereits beschriebenen tumorart-spezifischen und individuellen Unterschiede festzustellen.

Bei Betrachtung der individuellen Ergebnisse wies ein Adenokarzinom in der klinischen Anwendungsstudie den maximalen Wert von 20 und vier Tumoren einen Wert von 10 (zwei Undifferenzierte Karzinome und jeweils ein Undifferenziertes Sarkom bzw. Adenokarzinom) auf. Die drei Chondrosarkome und das Osteosarkom lagen hingegen mit einem Wert von 5 bzw. 2 im unteren Bereich. Im Gegensatz dazu wiesen die drei Undifferenzierten Sarkome mit einem Mittelwert von 6 einen COX-2 Score im mittleren Bereich auf, vergleichbar zu den Undifferenzierten Karzinomen. In der immunhisto-chemischen Vorstudie lagen im Vergleich dazu 61% (14 von 23

Proben) der Undifferenzierten Karzinome in einem Bereich von 10-20, während dies nur bei sechs Plattenepithelkarzinomen (29%), drei Übergangsepithelkarzinomen (15%) und einem Adenokarzinom (4%) der Fall war. Chondrosarkome und Ästhesioneuroblastome wiesen keine Resultate in einem solch hohen Bereich auf. Ein graphischer Vergleich der mittleren COX-2 Scores der Adenokarzinome, Undifferenzierten Karzinome und Chondrosarkome zwischen der klinischen Anwendungsstudie und der Immunhistochemischen Vorstudie ist in **Abbildung 4-4** dargestellt.

Abbildung 4-4: Vergleichende graphische Darstellung der mittleren COX-2 Scores COX-2-positiver Adenokarzinome, Undifferenzierter Karzinome und Chondrosarkome der immunhistochemischen Vorstudie und der klinischen Anwendungsstudie



Somit zeigten die Undifferenzierten Karzinome in Hinblick auf den mittleren COX-2 Verteilungsscore als auch COX-2 Score eine Tendenz zu den höchsten Werten, wobei Adenokarzinome im Bereich des COX-2 Scores ebenfalls hohe Werte aufwiesen. Diese Tendenz, die auf einer geringen Fallzahl beruht, unterstützt die in der Literatur beschriebenen Erfahrungen in Form einer zunehmenden COX-2 Expression bei steigender Malignität der Tumoren, da undifferenzierte Tumoren in der Regel ein maligneres biologisches Verhalten aufweisen als gut differenzierte Formen. Ob aus dieser relativ starken COX-2 Expression auch der Rückschluss auf ein besseres Ansprechen einer COX-2 hemmenden Therapie zulässig ist, ist im Rahmen dieser begrenzten klinischen Anwendungsstudie nicht zu beurteilen. Zudem

sind zusätzliche Einflussfaktoren auf eine NSAID-Wirkung, wie beispielsweise anderweitige wachstumsfördernde Mechanismen oder Resistenz(entwicklung)en, denkbar.

Eine besondere Schwierigkeit in der Vergleichbarkeit der COX-2 Expression und Wirkung einer COX-2 hemmenden Therapie liegt sicherlich in der mangelnden Homogenität der Tumorarten, da insbesondere die Gruppe der Undifferenzierten Karzinome eine sehr heterogene Gruppe darstellt. Die Tumorgenese ist hierbei meist nicht nachvollziehbar, das heißt, dass insbesondere die zugrunde liegende Zellart nicht bekannt ist, und auch der Differenzierungsstatus der Zellen ist heterogen. Die Heterogenität innerhalb der Gruppe der Undifferenzierten Karzinome zeigte sich in unserer Studie durch eine große Streubreite der Verteilungsscores von 2-5, so dass lediglich COX-2-negative Tumoren nicht vorkamen. Diese Unterschiede beziehen sich jedoch auch auf die Gruppe der Adenokarzinome, in der ebenfalls heterogene Ausprägungen vorkamen, was die individuellen Unterschiede in den Ergebnissen der COX-2 Expression erklären könnte. Die fünf Adenokarzinome der Studienpatienten zeigten in zwei Fällen einen geringen COX-2 Verteilungsscore von 1 bzw. 2 und in drei Fällen einen sehr hohen Verteilungsscore von 5. Dabei ist es denkbar, dass es sich bei den stark COX-2-exprimierenden Fällen bereits um wenigdifferenzierte Adenokarzinome am Übergang zu Undifferenzierten Karzinomen handelte, was in dieser Studie im Fall von Patient Nr. 19 bestätigt werden konnte. Für eine umfassende Beurteilung müssten jedoch gezieltere Untersuchungen bezüglich der Unterschiede innerhalb der Adenokarzinom-Gruppe durchgeführt werden und eine detaillierte Differenzierung der COX-2 Expression erfolgen.

Der bisherige Wissensstand bezüglich einer COX-2 Expression verschiedener Sarkom-Subtypen, insbesondere undifferenzierter Formen, ist noch gering und sollte durch weitere Untersuchungen ausgebaut werden. Zum aktuellen Zeitpunkt ist keine umfassende Beurteilung möglich.

4.2.4 Tumorlokalisation und -stadium

Wie bereits mehrfach in der Literatur postuliert, waren auch bei allen Patienten dieser Studie die kaudalen Nasenhöhlenareale involviert, wobei die meisten Patienten (92%) bereits tumoröse Veränderungen sowohl in kranialen als auch kaudalen Arealen aufwiesen (PATNAIK, 1989; MORRIS et al., 1994; AUPPERLE et al., 2011).

Da das Tumolvolumen der Studienpatienten in den kaudalen Bereichen, unter Berücksichtigung der unterschiedlichen anatomischen Gegebenheiten, überwiegend deutlich größer als kranial war, lässt dies vermuten, dass die meisten Tumoren ihren Ursprung im kaudalen Anteil der Nasenhöhle genommen haben.

In dieser Studie lagen bei 44% der Patienten (n=11) bilaterale Tumoren vor, was die Angaben aus der Literatur (um 50%) bestätigt (PATNAIK, 1989). Jedoch zeigte sich bei den meisten Patienten der vorliegenden Studie nur eine geringfügige Involvement der kontralateralen Nasenhöhlenseite. Das bilaterale Auftreten zeigte dennoch, dass ein Großteil der Patienten erst in einem fortgeschrittenen Tumorstadium diagnostiziert wurde. Dies wurde auch daran deutlich, dass bereits bei 72% der Patienten (n=18) eine Invasion in extranasale Strukturen festzustellen war und dadurch meist, auch bei unilateralem Auftreten, ein weit fortgeschrittenes Tumorstadium (Tumorstadium III oder IV) vorlag. Dies deutete bereits darauf hin, dass ein Großteil dieser Patienten einen prognostisch negativen Faktor aufwies, da dem Tumorstadium IV im Vergleich zu –stadium I eine deutlich schlechtere Prognose zugeschrieben wird (ADAMS et al., 2009). Die statistische Analyse der progressionsfreien Zeit und Überlebenszeit mittels Cox-Regression konnte dies nachfolgend bestätigen. Mit hoher Wahrscheinlichkeit (p-Wert = 0,016 bis 0,034) konnte in fünf von acht statistischen Auswertungen ein signifikanter Einfluss des Tumorstadiums auf die Überlebenszeit und/oder progressionsfreie Zeit nachgewiesen werden (siehe Kapitel 3.2.2.9 und 3.2.2.10).

Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Tumorstadium und der COX-2 Expression der Tumoren konnte in dieser Studie jedoch nicht festgestellt werden (p-Wert = 0,64 bis 0,97). Die höchsten COX-2 Verteilungsscores kamen sowohl bei Patienten in Tumorstadium I als auch IV vor.

Da der Zeitpunkt der Diagnosestellung jedoch von verschiedenen und vor allem individuellen Faktoren beeinflusst wird, ist kein einheitlicher Zeitpunkt nach Beginn der Tumorgenese zu erwarten. Daher spielen auch Faktoren wie beispielsweise die individuelle Symptomentwicklung, der Zeitpunkt des Tierarztbesuches oder die angewendeten Diagnostikmaßnahmen für den Zeitpunkt der Diagnosestellung und das jeweilige Tumorstadium eine Rolle. Dies erschwert die Beurteilungsmöglichkeiten hinsichtlich eines Zusammenhangs zwischen

Tumorstadium und COX-2 Expression, zusätzlich zu der geringen Fallzahl dieser Studie.

Die geringe Metastasierungsrate kaniner intranasaler Tumoren, wie in der Literatur beschrieben (MAC EWEN et al., 1977; ADAMS et al., 1987; EVANS et al., 1989; HENRY et al., 1998; NORTHRUP et al., 2001; YOON et al., 2007), war auch in der vorliegenden Untersuchung festzustellen. Lediglich drei Hunde zeigten im Laufe der Erkrankung, trotz überwiegend weit fortgeschrittener Tumoren, Hinweise auf Metastasen. Diese umfassten eine histologisch nachgewiesene Metastasierung in den ipsilateralen mandibulären Lymphknoten sowie zwei klinisch verdächtige pulmonale Metastasierungen. Bei beiden Patienten mit pulmonalen Veränderungen erfolgte jedoch keine histologische Verifizierung. Ein vierter Patient entwickelte laut Besitzerangaben ebenfalls Lungenmetastasen, jedoch litt dieser Patient bereits unter einer sehr umfangreichen, hochgradig tumorverdächtigen Milzveränderung mit zusätzlichen Leberveränderungen und zeigte keine deutliche Symptomprogression des Nasentumors, so dass hier stark von einem metastasierten Milztumor (z.B. einem Hämangiosarkom) ausgegangen wird. Die Ergebnisse dieser Studie stehen im Hinblick auf den Zeitpunkt des Metastasenauftretens nicht in Einklang mit publizierten Erkenntnissen einer späten Metastasierung (MORRIS et al., 1994; ADAMS et al., 1998; WITHROW und VAIL, 2007; YOON et al., 2007), da hier bereits zwei Patienten initial und ein weiterer Patient zum Zeitpunkt der 3-Monatskontrolle Metastasen aufwiesen. Da jedoch von einem Einfluss der Gesamtdauer der Erkrankung ausgegangen werden kann und diese in keiner der Untersuchungen bekannt ist, ist ein aussagekräftiger Vergleich schwierig. In der Untersuchung von GIEGER et al. (2008) zeigten ebenfalls drei Hunde Metastasen in einem regionalen Lymphknoten (n=1) oder der Lunge (n=2), die 70, 256 bzw. 390 Tage nach Therapieabschluss diagnostiziert wurden. Eine Angabe des exakten Zeitpunktes des Metastasenauftretens bzw. Vergleiche zwischen verschiedenen Patientengruppen sind jedoch nicht möglich, da die Tiere nicht täglich und nicht mit den gleichen Diagnostika auf Metastasen kontrolliert werden. Meist finden solche Kontrollen nur alle 3-6 Monate unter Anwendung unterschiedlich sensitiver Diagnostika, wie Röntgen oder Computertomographie, statt. Da in dieser Studie nicht alle Patienten auf Metastasen kontrolliert wurden und zum Todeszeitpunkt keine Sektion stattfand, kann die reale Metastasierungsrate deutlich höher liegen. Metastasen stellten aber in

keinem Fall die Todesursache, abgesehen von Patient Nr. 25 mit gleichzeitigem Vorliegen eines großen Milztumors, dar.

Die Verteilung der Tumorstadien war bei einheitlicher Anwendung der Einteilungskriterien nach ADAMS et al. (2009) vergleichbar zu der Patientengruppe (n=25) in der Untersuchung von SCHWIETZER (2008). Dies umfasste auch die allgemeine Tumorausdehnung und das initiale Auftreten jeweils einer Lymphknoten- und Lungenmetastase. Vergleichend lagen sieben bzw. neun Patienten in Tumorstadium I vor, zehn bzw. sieben Patienten in Stadium III und acht bzw. neun Patienten in Stadium IV. Damit bildeten beide Populationen eine gute Vergleichsgrundlage in Hinblick auf den prognostischen Einfluss des Tumorstadiums auf die progressionsfreie Zeit und Überlebenszeit. Ein solcher Einfluss konnte jedoch nur in der vorliegenden Studie nachgewiesen werden, in der sich eine statistisch stark erhöhte Wahrscheinlichkeit für das Eintreten einer Symptomprogression oder den Tod bei Patienten in Tumorstadium IV im Vergleich zu Patienten in Tumorstadium I (p-Wert=0,007 bis 0,034) zeigte. Dies wurde insbesondere anhand der graphischen Darstellung mittels Kaplan-Meier-Kurve deutlich (siehe Kapitel 3.2.2.9 und 3.2.2.10).

Eine Destruktion der kribriformen Platte wurde in dieser Studie überwiegend bei Karzinomen festgestellt, während sich im Vergleich dazu in der Untersuchung von SCHWIETZER (2008) vier von fünf Ästhesioneuroblastome, die jedoch nicht immunhistochemisch verifiziert worden waren, in Stadium IV befanden. In der vorliegenden Studie wurde der Ästhesioneuroblastom-Patient dem Stadium III zugeordnet und wies somit keine Destruktion der kribriformen Platte auf. Aus der Literatur ist jedoch bekannt, dass Ästhesioneuroblastome häufig aufgrund ihrer Lokalisation im Bereich der kribriformen Platte eine Destruktion derselbigen verursachen (PATNAIK, 1989; AUPPERLE et al., 2011).

4.2.5 Therapieplan

Primäre Therapie: Hypofraktionierte Bestrahlung

Aufgrund der allgemein geringen Metastasierungsrate bei intranasalen Tumoren wird eine Bestrahlungstherapie als primäre Therapieform empfohlen (YOON et al., 2007). Dabei kann, insbesondere bei weit fortgeschrittenen Tumoren, eine palliative

hypofraktionierte Bestrahlung zu einer zufrieden stellenden Symptomlinderung mit Verlängerung der Überlebenszeit führen (MORRIS et al., 1994; MELLANBY et al., 2002; YOON et al., 2007; GIEGER et al., 2008; SCHWIETZER, 2008). In den wenigen Untersuchungen mit hypofraktionierten Bestrahlungsprotokollen wurden jedoch stark divergierende Ergebnisse hinsichtlich der medianen Überlebenszeiten festgestellt, die zwischen 146 und 441 (63 Wochen) Tagen lagen (detaillierte Ergebnisse sind in **Tabelle 10-29** im Anhang zusammengefasst). Da jedoch insbesondere eine gesteigerte Lebensqualität in Form einer klinisch signifikanten Symptomlinderung Zielsetzung dieser Therapieform ist, ist ein Patientenanteil mit Symptomverbesserung von 92-95% eine gerechtfertigte Begründung zur Durchführung dieser Therapieform (MELLANBY et al., 2002; GIEGER et al., 2008). Insgesamt wiesen 96% der vorliegenden Studienpatienten eine klinische Symptomverbesserung infolge der Tumorthherapie auf, wobei zum Zeitpunkt der letzten Bestrahlung bereits 84% der Patienten (n=21) eine Verbesserung zeigten. Während der Bestrahlungstherapie wurde die Symptomatik zum Teil kurzfristig schlechter, wofür ursächlich eine radiogene Rhinitis vermutet wird.

Es sollte somit weiterhin für jeden Patienten individuell entschieden werden, welche Zielsetzung mit einer Bestrahlungstherapie verfolgt werden soll und welche Resultate erwartet werden können. Um die Einschätzung des zweiten Punktes zu erleichtern, sind weitere Studien und Erfahrungen notwendig.

Aufgrund des palliativen Charakters der hypofraktionierten Bestrahlungstherapie mit medianen Überlebenszeiten von fünf bis neun Monaten, ist eine solche Therapie aber auch bei Vorliegen von Metastasen sinnvoll, da sich diese überwiegend langsam progressiv verhalten. Die in dieser Studie aufgetretenen metastasenverdächtigen Lungenveränderungen, die bei zwei Patienten während des Studienzeitraumes festgestellt wurden, führten zu keinen klinischen Symptomen, so dass in beiden Fällen die Progression des Primärtumors die Todesursache darstellte. Dies deckt sich mit den publizierten Erfahrungen zahlreicher Studien, die zeigten, dass auch nach alleiniger lokaler Therapie von Nasentumoren, die lokale Tumorprogression in aller Regel die Todesursache darstellte (WITHROW und VAIL, 2007). Eine adjuvante Chemotherapie mit Carboplatin zur hypofraktionierten Bestrahlungstherapie führte bisher nicht zu einer Steigerung der Überlebenszeit (SCHWIETZER, 2008).

Die Therapie der Wahl zur bestmöglichen Tumorkontrolle stellt allerdings weiterhin eine Bestrahlung mit kurativer Intention mittels Megavoltage-Geräten dar. Jedoch kann häufig trotz kurativer Intention keine langfristige Tumorfreiheit erzielt werden, so dass die Überlebenszeiten median bei etwa einem Jahr liegen (MC ENTEE et al., 1991; THEON et al., 1993; NADEAU et al., 2004). Diese Therapieform kann im Vergleich zur hypofraktionierten Bestrahlung häufiger zu Langzeiterfolgen führen, was insbesondere bei Adenokarzinomen und Chondrosarkomen beobachtet wurde (YOON et al., 2007).

Zur Optimierung der Bestrahlungstechnik werden zurzeit verschiedene Ansätze, unter anderem im Hinblick auf eine Reduktion der Nebenwirkungen, untersucht, da bisher keine vergleichbar oder besser wirksamen therapeutischen Alternativen vorliegen. So wird beispielsweise eine sogenannte „Intensity-modulated radiation therapy“, „Shrinking field technique“ oder eine Differenzierung der Bestrahlungsfelder in rostrale und kaudale Areale eingesetzt, um insbesondere die strahlensensiblen okularen und neuronalen Strukturen zu schonen (HUNLEY et al., 2010; MARUO et al., 2010). Zielsetzung dieser Techniken ist eine höchstmögliche Dosisapplikation im Bereich des Tumors bei gleichzeitig bestmöglicher Dosisreduktion im Bereich der strahlensensiblen Umgebungsstrukturen und somit bestmöglicher Reduktion der therapieassoziierten Nebenwirkungen (HUNLEY et al., 2010; MARUO et al., 2010). Ein besonders detailgenaues Verfahren stellt dabei die „Intensity-modulated radiation therapy“ dar, bei der von Therapiebeginn an eine exakte Abgrenzung der unterschiedlichen Gewebe stattfindet und eine Modulation der Bestrahlungsdosis erfolgt. Die intranasalen Tumoren bieten sich durch die Tumorlokalisation in direkter Nachbarschaft zu sehr strahlensensiblen Organen und Geweben (z.B. Auge, Mundhöhlenschleimhaut oder Gehirn) zur Evaluierung dieser neuen Methodik an. Auf diese Weise konnten vergleichbare Tumorkontrollzeiten wie bei konventionellen Methoden bei gleichzeitig deutlicher Reduktion der Bestrahlungsnebenwirkungen erzielt werden (HUNLEY et al., 2010). Daher stellt diese Bestrahlungstechnik auch ein vielversprechendes Verfahren für hypofraktionierte Bestrahlungen dar, da auch hier aufgrund der hohen Einzelfractionen ein hohes Potential für Nebenwirkungen, insbesondere chronischer Natur, vorliegt. Jedoch ist zu bedenken, dass durch diese Technik strahlensensible Gewebe in unmittelbarer Nähe zum Tumorgewebe, wie es häufig das ipsilaterale Auge betrifft, nicht deutlich stärker geschont werden können

als bei den konventionellen Methoden. Zudem muss auf eine äußerst exakte Lagerung geachtet werden, die ebenfalls in der praktischen Durchführung eine große Herausforderung darstellen kann. Aufgrund des hohen technischen Aufwands ist zu erwarten, dass diese Methodik in zeitnaher Zukunft noch nicht weitläufig umsetzbar ist.

Eine Bestrahlungsmethodik mit zwei getrennten Bestrahlungsfeldern, rostral und kaudal des Augenlides, kann die Dosisverteilung deutlich auf das Tumervolumen fokussieren. So betrug die mediane Bestrahlungsdosis im Rahmen einer Studie 32 Gy im Tumorgewebe, während sie im Zentrum des ipsilateralen Augapfels lediglich 9,5 Gy maß (MARUO et al., 2010). Diese relativ gut umsetzbare Technik bietet daher bereits in unmittelbarer Zukunft eine Möglichkeit zur schonenderen Anwendung hypofraktionierter Bestrahlungen.

Adjuvante Therapie: COX-2 Hemmstoff Meloxicam

Zusätzlich zu der Anwendung einer palliativen hypofraktionierten Bestrahlung ist in dieser Studie ein adjuvanter Therapieansatz in Form einer dauerhaften Gabe des COX-2 Hemmstoffs Meloxicam untersucht worden. Dies ist darin begründet, dass bei zahlreichen Tumoren wiederholt eine starke, unphysiologische COX-2 Expression nachgewiesen wurde (FOSSLIEN, 2000; siehe Kapitel 2.2.3.2) und bereits erste Hinweise auf einen therapeutischen Nutzen der COX-2 Hemmstoffe vorliegen (KNAPP et al., 1992; KNAPP et al., 1994; KNOTTENBELT et al., 2000; SCHMIDT et al., 2001; SORENMO et al., 2004). In diesen Studien wurden die Resultate nach Anwendung der empfohlenen Dosierung für den (Langzeit)Einsatz des entsprechenden Wirkstoffs bei Hunden erhoben, so dass auch in der vorliegenden Studie die empfohlene Dosierung für Meloxicam eingesetzt wurde. Durch die Etablierung COX-2 präferentieller und selektiver Präparate im klinischen Alltag werden Nebenwirkungen auch nach langfristiger Gabe nur selten gesehen. In dieser Studie wurde ein COX-2 präferentieller Wirkstoff angewendet, da es Hinweise darauf gibt, dass auch die Hemmung der COX-1 therapeutische Effekte erzielen kann (BAEK et al., 2009). Aufgrund der Summe publizierter Erkenntnisse und Erfahrungen, erscheinen diese Präparate als begleitende Therapie sinnvoll und erfolgsversprechend.

Einen neuen interessanten Aspekt der Therapie mit COX-2 Inhibitoren beschrieben ZATELLI et al. (2007), die anhand einer humanen Brustkrebszelllinie zeigten, dass ein selektiver COX-2 Hemmstoff (NS-398) eine Doxorubicin-bedingte Chemoresistenz sowohl rückgängig machen als auch präventiv verhindern konnte. Der Hintergrund dazu war, dass NS-398 zu einem signifikanten Rückgang der Expression des Multi Drug Resistance-1 Gens (MDR-1) und dessen Produkts P-Glykoprotein sowie zu einer Funktionshemmung des P-Glykoproteins führte. Auf diese Weise konnten Chemotherapeutika erneut in die Tumorzellen aufgenommen werden und ihre antitumoröse Wirkung entfalten (ZATELLI et al., 2007). Somit liegt eine interessante Indikation zur Evaluierung von NSAIDs im klinischen Einsatz zur Vermeidung oder Therapie von Chemoresistenzen vor. Zudem deutet dies darauf hin, dass der häufig auftretende Resistenzmechanismus der MDR-1 Geninduktion keine entscheidende Rolle beim Einsatz von NSAIDs in der antitumorösen Therapie spielt.

Auf einen weiteren neuen interessanten Therapieansatz zielten aktuelle Forschungsprojekte hin. Dabei wurden spezifischere Ansatzpunkte in der Tumorthherapie genutzt, sogenannte *Targets*, da die Hoffnung besteht, auf diese Weise effektiver und schonender therapieren zu können. In Hinblick auf die COX-2 Wirkung wurden dabei die Wirkungsweise und Angriffspunkte von PGE₂ näher untersucht, wodurch bisher vier verschiedene Rezeptoren an der Zelloberfläche (EP1 bis EP4) nachgewiesen werden konnten. Dabei wurde bereits deren Involvierung in die Kanzerogenese, wie beispielsweise bei humanen Mammatumoren, nachgewiesen. Da diese Wirkung bereits durch Antagonisten unterbunden werden konnte, stellen diese Rezeptoren, über die PGE₂ die bekannte Förderung der Kanzerogenese (Tumorphiliferation, Neoangiogenese, Immunsuppression) bewirken kann, vielversprechende Ziele zur spezifischeren Tumorthherapie dar (DORE, 2011).

4.2.6 Nachkontrollen und Therapieresultate

Die Durchführung der auf freiwilliger Basis gehaltenen Nachkontrollen gestaltete sich aufgrund mangelnder Besitzerbereitschaft schwierig, so dass dies als einer der Schwachpunkte dieser klinischen Anwendungsstudie anzusehen ist. Eine computer- oder magnetresonanztomographische Untersuchung fand bei allen Patienten unmittelbar vor und nach der Bestrahlungstherapie statt. Zu einer ersten Nachkontrolle nach 2-4 Monaten wurden zwölf Patienten (48%) vorgestellt, wobei ein weiterer Patient bereits nach einem Monat nachuntersucht wurde. Sechs Monate

nach der Therapie wurden zehn Patienten (40%), 8-9 Monate später fünf Patienten (20%) und 15 bzw. 18 Monate später wurde jeweils ein Patient zur Nachkontrolle vorgestellt. Somit liegen Resultate zur Therapiewirkung innerhalb der ersten sechs Monate nach Bestrahlungsabschluss von etwa der Hälfte der Patienten vor. Die Symptomentwicklung aller Patienten wurde zudem telefonisch evaluiert, um insbesondere den Zeitpunkt einer Symptomprogression festzustellen. Dies schränkt die Aussagekraft der Therapiebeurteilung ein, so dass diese Resultate nur deskriptiv dargestellt werden und keiner statistischen Auswertung unterzogen wurden.

4.2.6.1 Klinische Symptomatik

Ein deutlicher Rückgang der klinischen Symptomatik, insbesondere des Hauptsymptoms „Nasenausfluss“, konnte sowohl nach der Monotherapie mit Meloxicam als auch nach Durchführung der Bestrahlungstherapie bei einem Großteil der Patienten (75% bzw. 84%) festgestellt werden. Drei Viertel der Patienten wiesen somit bereits nach einer Meloxicam-Monotherapie über median 14,5 Tage eine erkennbare Linderung der tumorassoziierten Symptome auf. Dies bedingte in vielen Fällen, als subjektive Einschätzung der Besitzer, eine Steigerung des Allgemeinbefindens und der Lebensqualität der Patienten. Diese Beobachtung deckt sich mit publizierten Erfahrungen, die eine meist temporäre Symptomverbesserung durch den palliativen Einsatz von NSAIDs, Glukokortikoiden oder Antibiotika feststellten (GIEGER et al., 2008).

Über die kausale Grundlage dieser Beobachtung ist lediglich zu mutmaßen. Als wahrscheinlichste Ursache wird die antiphlogistische Wirkung mit Rückgang der sekundären Rhinitis angenommen, jedoch kann auch ein Einfluss auf das Tumervolumen mitverantwortlich sein. Aufgrund des geringen Patientenanteils mit Symptomverbesserung und gleichzeitiger Remission des Tumervolumens (n=5), ist nach diesem kurzen Therapieintervall eine Symptomverbesserung am wahrscheinlichsten bzw. überwiegend durch den antiphlogistischen Effekt zu erklären. Auffällig war ein hoher Anteil an Patienten (52%), der bereits nach dieser kurzen Zeit einen deutlichen Rückgang blutiger Anteile des Nasenausflusses zeigte. Dies ist insbesondere bedeutsam, da dies häufig eine sehr belastende klinische Erscheinung des Tumors, sowohl für Patient als auch Besitzer, darstellt.

Es konnte kein signifikanter Unterschied der Symptomlinderung zwischen Patienten unterschiedlicher Tumorstadien festgestellt werden, wobei Patienten in Stadium IV mit 87,5% am häufigsten eine Symptomverbesserung aufwiesen. Daher scheint ein

klinischer Symptommrückgang auch bei weit fortgeschrittenen Tumoren ein realistisches Therapieziel darzustellen.

Bei Beurteilung eines potentiellen Zusammenhangs zwischen der Symptomverbesserung mit der COX-2 Expression der Tumoren war festzustellen, dass Patienten mit einem COX-2 Score <5 seltener eine Symptomverbesserung zeigten (62%; 8/13 Patienten) als Patienten mit einem COX-2 Score ≥ 5 (82%; 9/11 Patienten). Zudem zeigten die drei Patienten mit COX-2-negativen Tumoren, die eine Monotherapie mit Meloxicam erhielten, lediglich eine stabile Symptomatik (n=2) oder eine geringgradige Verbesserung mit unveränderter Ausprägung des Nasenausflusses (n=1).

Es ist vorstellbar, dass durch parakrine Effekte der tumoreigenen COX-2 Expression auf das peritumoröse Gewebe beziehungsweise die umgebenden Immunzellen eine Induktion inflammatorischer Prozesse stattfindet und auf diese Weise ein damit korrelierender verstärkter antiphlogistischer Effekt bei COX-2-exprimierenden Tumoren vorliegt. Dies ist jedoch lediglich eine Vermutung, da weder eine Beurteilung des peritumorösen Inflamationsgrades noch eine PGE₂-Messung bei den Tumoren stattfand.

Während der Bestrahlungstherapie zeigten die Studienpatienten vereinzelt eine Progression der klinischen Symptomatik, die teilweise auch mit einer Progression des Tumorzvolumens einherging. Aufgrund dieser temporären und überwiegend unmittelbar auftretenden Verschlechterung, die nach Abschluss der Bestrahlungstherapie meist wieder deutlich zurückging, erscheint das Auftreten einer strahleninduzierten Rhinitis als Ursache am wahrscheinlichsten. Alternativ ist das Auftreten einer „wahren“ Tumorprogression möglich, da die Therapiewirkung der Bestrahlung aufgrund des Wirkungsprinzips (siehe Kapitel 2.3.3) verzögert einsetzt.

In einer Publikation wurde berichtet, dass sich bei Patienten, von denen sich knapp die Hälfte in einem weit fortgeschrittenen Stadium befand und die mit einem vergleichbaren Bestrahlungsprotokoll behandelt wurden, in zwei Dritteln der Fälle ein kompletter Symptommrückgang entwickelte. Dieser hielt bei 10% der Patienten länger als ein Jahr an (GIEGER et al., 2008). Auch in einer Untersuchung von MARUO et al. (2010), in der die Wirkung einer hypofraktionierten Bestrahlung mit einer Gesamtbestrahlungsdosis von median 32 Gy evaluiert wurde, zeigte sich ein hoher Anteil an Patienten mit Symptomverbesserung (84%). Somit wird deutlich, dass das vorrangige Ziel einer palliativen Bestrahlung, nämlich die klinische

Symptomverbesserung mit einhergehender Verbesserung der Lebensqualität, auch bei weit fortgeschrittenen Tumoren ein realistisches Therapieziel darstellt.

Eine Progression der Symptomatik setzte in der vorliegenden Studie nach median 147 Tagen (Streubreite 0-545 Tage) ein, so dass sich dieser Zeitpunkt deutlich von der medianen Überlebenszeit von 214 Tagen (Streubreite 57-639 Tage) unterscheidet. Daraus kann geschlossen werden, dass die klinische Symptomatik die Lebensqualität und das Wohlbefinden des Patienten zunächst nicht signifikant einschränkte und die Patientenbesitzer nach einer Rezidivierung noch keine Euthanasie in Erwägung ziehen mussten. Dies könnte möglicherweise auch durch eine Wachstumsverzögerung der Tumoren mit Verlangsamung der Symptomprogression durch die angewendete Therapie mitbegründet sein.

Durch den hohen Patientenanteil, der aufgrund dieser palliativen Bestrahlungstherapie mit adjuvanter NSAID-Gabe eine Symptomverbesserung entwickelte, konnte gezeigt werden, dass auch dieses, im Vergleich zur kurativen Bestrahlungstherapie wenig aufwendige Vorgehen zu sehr zufriedenstellenden Resultaten führen kann. Aus Sicht der klinischen Symptomentwicklung konnten 96% der Hunde von dieser Therapie profitieren, wobei es bei fünf Patienten (20%) zu einer mehr als einjährigen Symptomlinderung kam. Auf diese Weise kann bestätigt werden, dass diese Form der palliativen Therapie eine attraktive Alternative insbesondere bei älteren, möglicherweise multimorbiden Hunden oder Patienten mit weit fortgeschrittenen Tumoren darstellt, die unter Umständen unterdurchschnittlich von einem kurativen Therapieprotokoll profitieren würden. Leider ist bisher unbekannt, ob individuelle Indikatoren vorliegen, die eine frühzeitige individuelle Einschätzung der Therapiewirkung erlauben würden. So erscheint es momentan nicht gerechtfertigt, selbst bei fortgeschrittenen intranasalen Tumoren von einer palliativen Therapie abzuraten.

Inwieweit die zusätzliche Applikation des NSAIDs Meloxicam einen positiven Nutzen auf den Symptomrückgang ausübte, ist aufgrund einer fehlenden (Plazebo-)Kontrollgruppe nicht zu beurteilen. Jedoch zeigten sich bereits innerhalb der ersten 6-26 Tage nach Monotherapie mit Meloxicam bei einem Großteil der Patienten (75%) eine deutliche Symptomreduktion und eine Verbesserung des Allgemeinbefindens.

4.2.6.2 Tumorvolumen

Die Beurteilung der Therapiewirkung auf das Tumorgewebe erfolgte anhand volumetrischer Kriterien, wie sie bisher nur sehr vereinzelt in veterinärmedizinischen Fachpublikationen angewendet wurden (STANCLIFT und GILSON, 2008; WILEY et al., 2010). Diese dreidimensionale Bewertungsgrundlage der Therapiewirkung verspricht eine sehr exakte Quantifizierbarkeit, zudem sie auf detaillierten Erkenntnissen aus den bildgebenden Schichtbildtechniken basiert. Da es sich bei intranasalen Tumoren überwiegend um nicht-sphärisch wachsende Neoplasien handelt, werden ihnen die bisherigen ein- oder zweidimensionalen Kriterien, beispielsweise nach WHO oder RECIST, nicht ausreichend gerecht (WILEY et al., 2010), so dass die volumetrische Messung zur Beurteilung der Therapiewirkung adäquater erscheint. Aufgrund dieser innovativen Messmethodik liegen kaum Daten zur Vergleichbarkeit sowie Ausarbeitung und Standardisierung vor.

In zwei veterinärmedizinischen Studien zeigte sich kein signifikanter Unterschied der Ergebnisse im Vergleich zu den bisher verwendeten WHO und RECIST Kriterien, wobei beide Studien oberflächlich lokalisierte und überwiegend sphärisch wachsende Tumoren beurteilten. Daher erfolgte in diesen Studien keine bildgebende Diagnostik zur Volumenbestimmung (STANCLIFT und GILSON, 2008; WILEY et al., 2010).

Eine entscheidende Einschränkung aller dieser Bewertungskriterien der Therapiewirkung auf das Tumorvolumen stellt die Beurteilung des realen Tumorvolumens dar, da eine exakte Unterscheidung zwischen Tumorgewebe und peritumorösem Gewebe nicht möglich ist. So kann beispielsweise der Übergang von peritumorösem, inflammatorischem Gewebe in das Tumorgewebe nicht abgegrenzt werden, während Sekret oder nekrotisches Gewebe aufgrund der meist geringen Kontrastmittelanreicherung ansatzweise abgegrenzt werden kann. Letzteres kann zudem durch Anwendung der Magnetresonanztomographie gefördert werden, da stationäre Flüssigkeiten in der T₂-Gewichtung hyperintens im Vergleich zu Weichteilgewebe erscheinen. Dies ist im Rahmen der Computertomographie nicht ohne weiteres möglich. Da nekrotisches Gewebe in der Regel dem Tumorgewebe zugeordnet wird, während Sekret nicht zwangsläufig mit dem tumorösen Gewebe in Zusammenhang steht, wurde in dieser Studie jegliches unphysiologisches Gewebe der Nasenhöhle bzw. perinasalen Strukturen für die Auswertung des Tumorvolumens berücksichtigt. Dies wurde auch aus Gründen der klinischen Relevanz entschieden, da sowohl der Rückgang von Tumorgewebe als auch von peritumorösem Gewebe

Anteil an der Verbesserung der klinischen Symptomatik trägt und beide Aspekte einen Einfluss auf die Überlebenszeit bzw. progressionsfreie Zeit nehmen.

Eine weitere Einschränkung in der Beurteilung der Therapiewirkung im Rahmen der volumetrischen Messung des Tumorumfanges stellen biologische Veränderungen dar, wie beispielsweise eine Hemmung der Neoangiogenese oder der Enzym- und Hormonfreisetzung, da diese nicht erfasst werden können (WILEY et al., 2010). Äußerst interessant wäre eine Untersuchung der COX-2 Expression bzw. PGE₂-Freisetzung im Verlaufe der Therapie. Dies ist jedoch mit den bisherigen Nachweismethoden nicht oder nur mit äußerst großem Aufwand, wie beispielsweise regelmäßigen Tumorbiopsien, möglich. Daher erscheint dies aus aktueller Sicht nicht praktikabel.

Da eine peritumoröse Entzündung bei Nasentumoren häufig vorliegt, was sich eindrucksvoll an den immer wieder vorkommenden falsch-negativen Biopsieergebnissen zeigt, ist der Mangel an Differenzierungsmöglichkeiten zwischen den unterschiedlichen Gewebetypen ein wesentlicher Nachteil bisheriger Beurteilungskriterien. Andererseits erscheint für die Bewertung der Therapiewirkung der Symptommrückgang oder das Erreichen einer Symptomfreiheit ein wichtigeres Kriterium im Vergleich zur Tumorremission darzustellen. Zudem ist zu erwarten, dass nicht nur der quantitative Tumorrückgang, sondern auch der qualitative Einfluss auf das Tumorgewebe eine wichtige Rolle spielt. Beispielsweise ist bei Hemmung der sogenannten Tumorstammzellen, die die Basis eines Tumors darstellen, mit einer langfristigeren Wirkung zu rechnen als bei Schonung dieser Zellen. Sollte eine Therapie in besonderem Maße auf Tumorstammzellen wirken, tritt der quantitative Rückgang des Tumors zeitabhängig zwangsläufig ein, da diese die „Brutstätte“ für neue Tumorzellen darstellen. Somit stellen Tumorstammzellen ein vielversprechendes Therapieziel dar, wodurch mit einem kleinen therapeutischen Zielpunkt eine größtmögliche Wirkung zu erzielen ist. Jedoch zielen die bisherigen Krebstherapien, wie Bestrahlungs- oder Chemotherapie, auf die Hemmung schnell proliferierender Zellen, während die Möglichkeiten zur Hemmung der sich langsam teilenden Stammzellen zurzeit weitestgehend unbekannt sind und weiterhin im Fokus der Wissenschaft stehen (KNOBLICH, 2006).

Als ein weiterer entscheidender Faktor mit Einfluss auf die Beurteilung der Therapieresultate ist der zeitliche Abstand der Kontrollzeitpunkte zu bedenken. Die Nachkontrollen waren in dieser Studie anfangs sehr engmaschig gewählt (1-3 Wochen Abstände), so dass ein Rückgang des Tumorstadiums innerhalb dieser kurzen Zeit einen anderen Stellenwert einnimmt als innerhalb der standardmäßig angewendeten dreimonatigen Kontrollen. Um diesem Umstand gerecht zu werden, wurden die Kriterien für eine partielle Remission weiträumiger gefasst (11-99% Tumorrückgang) und in drei Grade (gering-, mittel- und hochgradig) eingeteilt. Analog wurde eine progressive Erkrankung bereits als eine Volumenzunahme $\geq 10\%$ definiert.

Tumorstadium nach Meloxicam-Monotherapie

Die erste Beurteilung der Therapiewirkung auf das Tumorstadium fand in dieser Studie nach einer median zweiwöchigen Monotherapie mit Meloxicam statt, bei der trotz dieses zeitlich kurzen Intervalls bereits fünf Patienten (21%) eine partielle Remission des Tumorstadiums um 12% bis 75% aufwiesen. Einschränkend muss, wie im oberen Abschnitt erwähnt, bedacht werden, dass hierbei keine Unterscheidung zwischen peritumorösem Gewebe und neoplastischem Gewebe möglich war. Ein Rückgang der peritumorösen Entzündung könnte insbesondere bei den beiden Patienten mit partieller Tumorstadiumsremission um 12% bzw. 13% zutreffen. Bei drei Patienten, die einen Rückgang des Tumorstadiums um 40%, 42% bzw. 75% gezeigt haben, erscheint aufgrund der ausgeprägten Remission zusätzlich ein antitumoröser Effekt möglich. Allgemein ist jedoch aufgrund des zeitlich geringen Rahmens dieses Tumorrückgangs zu vermuten, dass dieser überwiegend durch einen Rückgang der peritumorösen Entzündung und Exsudatretention bedingt ist als durch einen, meist apoptose-bedingten, Rückgang von Tumorzellen. Allerdings stellt sich die Frage, warum nur einzelne Tumoren, trotz einer allgemein zu erwartenden peritumorösen Entzündung bei vorliegender COX-2 Expression, in Remission gegangen sind. Dies impliziert, dass weitere Faktoren als die alleinige antiphlogistische Wirkung, die bei allen peritumorösen Entzündungen in gleicher Ausprägung ansprechen sollte, eine Rolle spielen könnten.

Bei Betrachtung möglicher Einflussfaktoren auf den partiellen Tumorrückgang dieser Patienten fiel auf, dass alle fünf Patienten unter intranasalen Karzinomen litten. Auch war festzustellen, dass vier Fünftel der Patienten einen COX-2 Verteilungsscore von

4-5 aufwiesen, der somit deutlich über dem Mittelwert (2,7) lag. Der Patient mit dem stärksten Tumorrückgang (um 75%) wies jedoch lediglich einen Verteilungsscore von 2 auf, zeigte aber einen vergleichsweise hohen COX-2 Score von 10 und somit eine starke Intensität der COX-2 Expression. Der Patient mit dem maximal zu erreichenden COX-2 Score von 20 zeigte eine partielle Remission um 42% und damit den zweitstärksten Tumorrückgang nach Monotherapie mit Meloxicam. Die COX-2 Scores der anderen drei Patienten lagen eher im mittleren Bereich, so dass hier eine breite Verteilung der COX-2 Expression innerhalb der Tumorzellen im Vordergrund stand. Der Anteil COX-2-positiver Zellen schien somit, soweit anhand dieser geringen Fallzahl zu beurteilen, eine bedeutendere Rolle als die Intensität der Expression zu spielen. Details zu diesen Patienten sind **Tabelle 10-26** im Anhang zu entnehmen.

Im Gegensatz dazu waren unter den Tumoren mit Progression (n=6) drei Sarkome, ein Undifferenziertes Karzinom und zwei Adenokarzinome vertreten, wovon zwei Tumoren COX-2-negativ waren. Zudem wiesen zwei weitere Tumoren lediglich einen geringen Verteilungsscore von 2 bzw. 3 und einen geringen COX-2 Score von 3 bzw. 4 auf. Eine Ausnahme stellten hingegen zwei Patienten mit vorliegender Tumorprogression dar, die unter einem Undifferenzierten Karzinom und einem Adenokarzinom litten und einen hohen Verteilungsscore von 5 sowie einen COX-2 Score von 10 aufwiesen. Diese beiden Tumoren zeigten jedoch wenig später, zum Zeitpunkt der letzten Bestrahlung, eine partielle Tumorremission um 53% bzw. 23%.

Da sich das Tumorstadium im Rahmen der statistischen Auswertung als statistisch signifikant für die Überlebenszeit und progressionsfreie Zeit darstellte, wurde dies bei den Patienten mit partieller Tumorremission näher betrachtet. Drei von fünf Patienten befanden sich in Tumorstadium I, da deren Tumoren zwar überwiegend eine beachtliche Ausdehnung erreicht hatten, aber keine Anzeichen einer Invasivität in Nachbarstrukturen aufwiesen. Dies könnte daher auf Tumoren mit biologisch wenig aggressivem Verhalten hinweisen. Zusätzlich zeigte Patient Nr. 23, der eine partielle Remission um 75% aufwies, initial das geringste Tumolvolumen und erhielt Meloxicam über den längsten Zeitraum (26 Tage) aller Patienten. Dies gab Anlass zur Annahme, dass geringe Tumolvolumina insgesamt besser auf eine Therapie ansprechen könnten als große Tumolvolumina, die beispielsweise bereits

Durchblutungs-einschränkungen aufweisen könnten, und/oder dass die Dauer der NSAID-Gabe eine wichtige Rolle spielen könnte. Auch könnte bei dem besagten Patienten spekuliert werden, dass er unter einer besonders ausgeprägten peritumorösen Entzündung litt und somit gut auf die entzündungshemmende Wirkung des NSAIDs ansprach. Leider sind die Ursachen und Einflussfaktoren auf die Wirkung des NSAIDs im Rahmen dieser Studie nicht sicher zu benennen.

Es existiert zurzeit keine Vergleichsgrundlage bezüglich der Wirkung einer NSAID-Monotherapie auf das Tumolvolumen kaniner intranasaler Tumoren. Allgemein gibt es nur wenige veterinärmedizinische Untersuchungen, die die Wirkung von NSAIDs auf das Tumolvolumen beschreiben, da diese Messgröße oft schwierig zu evaluieren ist und daher häufig nur die Wirkung auf die Überlebenszeit berichtet wird. Einer der ersten Einsätze eines NSAIDs, Piroxicam, bei Hunden erfolgte durch KNAPP et al. (1994) bei Übergangsepithelkarzinomen der Harnblase. In dieser sowie in einer weiteren ähnlich angelegten Studie wurde nach Piroxicam-Monotherapie eine Remission bei 19% bzw. 33% der Tumoren festgestellt, die in einer der beiden Studien nach etwa vier Wochen beurteilt wurde (KNAPP et al., 1992; KNAPP et al., 1994). Nach Piroxicam-Gabe bei Patienten mit oralen Plattenepithelkarzinomen konnte bei einem Patient eine komplette Remission und bei zwei Patienten eine partielle Remission festgestellt werden, so dass insgesamt bei 18% der Hunde ein Tumorrückgang nachgewiesen wurde (SCHMIDT et al., 2001). Damit liegen die in der vorliegenden Studie festgestellten partiellen Tumorremissionen bei 21% der Patienten (5/24) nach median zwei Wochen Meloxicam-Monotherapie in einem vergleichbaren Bereich. Eine Einschränkung der Vergleichbarkeit ist jedoch aufgrund der angewendeten Beurteilungskriterien des Tumorrückgangs gegeben, da in den oben genannten Studien zweidimensionale Kriterien angewendet wurden, während die Beurteilung in dieser Studie auf dreidimensionalen Kriterien beruhte.

Tumorzvolumen nach Bestrahlungstherapie

Zum Zeitpunkt der letzten Bestrahlung zeigten 15 Patienten (60%) im Vergleich zum Vorbefund (etwa zwei Wochen zuvor zum Zeitpunkt der ersten Bestrahlung) eine partielle Remission des Nasentumors, während sieben Patienten (28%) stabile Tumoren aufwiesen. Somit zeigten drei Patienten (12%) eine Tumorzunahme, deren Volumenzunahme zwischen 21% und 62% lag. Einer dieser drei Patienten (Patient Nr. 21), der unter einem Undifferenzierten Sarkom litt, zeigte nach Auftreten einer Progression um 62% nachfolgend im Rahmen der 6-Monatskontrolle eine partielle Remission des Tumors um 44% im Vergleich zum Befund vor der Bestrahlungstherapie, welche auch bei der 9-Monatskontrolle nachzuweisen war. Dieser Patient lebte 468 Tage nach Therapiebeginn zum Studienendpunkt weiterhin symptomfrei und wurde für die Auswertung der Überlebenszeit und progressionsfreien Zeit zensiert. Dies veranschaulicht sehr eindrücklich, dass große Unterschiede im Wirkungseintritt vorliegen können, die somit nicht zwangsläufig Rückschlüsse auf die Therapiewirkung oder die Prognose zulassen. Im Gegensatz dazu zeigten zwei Patienten mit einer partiellen Remission um 42% bzw. 13% nach Meloxicam-Monotherapie und 44% bzw. 47% Remission zum Zeitpunkt der letzten Bestrahlung bereits nach 6 Monaten eine erneute Progression der Tumoren. Beide Hunde mussten aufgrund des Primärtumors nach 188 bzw. 184 Tagen euthanasiert werden.

Eine partielle Remission konnte bei weiteren vier Patienten zum Zeitpunkt der 3-Monatskontrolle festgestellt werden, während zwei Patienten bereits wieder einen Volumenzunahme zu verzeichnen hatten. Einschränkend ist zu bemerken, dass lediglich 13 Patienten zu dieser Zeit zu einer Nachkontrolle vorgestellt wurden. Daher ist eine umfassende Bewertung des Verlaufs bezüglich des Tumorzvolumens nicht möglich. Insgesamt entwickelten somit jedoch mehr als drei Viertel der Patienten während der ersten drei Monate nach der Bestrahlungstherapie eine partielle Remission des intranasalen Tumors.

In einer kleineren Fallstudie bei neun Patienten mit weit fortgeschrittenen Tumoren konnte bei zwei Patienten nach hypofraktionierter, palliativer Bestrahlung (3 Fraktionen á 8 Gy) eine komplette Remission der Tumoren nach 3 bzw. 16 Wochen mittels computertomographischer Untersuchung nachgewiesen werden, die jedoch anhand zweidimensionaler Kriterien beurteilt wurden

(SCHWIETZER et al., 2005). Da die meisten anderen Publikationen retrospektiven Charakters waren, existiert keine Vergleichsgrundlage für eine detaillierte Betrachtung der Therapiewirkung auf das Tumolvolumen.

Insgesamt elf Patienten (44%) wiesen an mindestens einem Kontrollzeitpunkt nach Bestrahlungsabschluss eine partielle Remission um über 50% des initialen Tumolvolumens auf (Details siehe **Tabelle 10-27** im Anhang).

Auch bei dieser Patientengruppe fiel auf, dass neun von elf Tumoren Karzinome darstellten, wobei Undifferenzierte Karzinome (n=5) überwogen. Zudem befand sich ein Undifferenziertes Sarkom unter den Tumoren.

Trotz eines hohen Anteils an Patienten mit einer breiten Verteilung der COX-2 Expression im Tumor (n=7, Verteilungsscore 4-5), sind innerhalb dieser Gruppe auch Patienten mit einer geringen COX-2-positiven Zellzahl vertreten. So findet sich hier auch ein als COX-2-negativ klassifizierter Tumor (Patient Nr. 20), ein Übergangsepithelkarzinom, das zudem eine der deutlichsten Remissionen (um 91%) zeigte. Da Karzinome und mäßig differenzierte Tumoren nachgewiesenermaßen sehr strahlensensibel sind, kann die gute Therapiewirkung auf Karzinome auch einzig durch die Bestrahlungswirkung oder durch deren Kombination mit der NSAID-Gabe begründet sein. Alle drei Tumorstadien waren etwa zu gleichem Maße in dieser Gruppe vertreten, wobei der Anteil an Patienten im Stadium IV am geringsten war.

4.2.7 Nebenwirkungen

Nebenwirkungen der Meloxicam-Gabe

Die Meloxicam-Langzeitgabe führte, unter Ausnahme von Patient Nr. 6, zu keinen Nebenwirkungen, die ein längerfristiges Absetzen des Präparates erforderlich machten. Ein Patient entwickelte nach Abschluss der Bestrahlungstherapie temporär Durchfall, der nach Absetzen des Präparates zeitnah zurückging und anschließend trotz Weiterführung der Meloxicam-Gabe nicht mehr auftrat. Da Nebenwirkungen einer Meloxicam-Gabe meist bereits innerhalb der ersten Woche nach Therapiebeginn auftreten (nach Gebrauchsinformation für Metacam^{®25}), ist das Auftreten der Diarrhoe auch durch sekundäre Einflüsse denkbar, was durch das ausbleibende Wiederauftreten nach erneuter Meloxicam-Gabe unterstützt wird. Insgesamt liegen bei initial gutem klinischen Allgemeinbefinden und physiologischen Laborparametern der Patienten keine Hinweise auf ein hohes Nebenwirkungsrisiko bei langfristigem Einsatz von Meloxicam vor, welches zudem für eine Langzeitgabe zugelassen ist.

In dieser Studie lagen initial keine bedeutsamen Veränderungen der Laborparameter vor, mit Ausnahme von Patient Nr. 6, bei dem bereits initial eine geringgradige Hypoalbuminämie (2,6 g/dl) ohne weitere abweichende Parameter vorlag (siehe Kapitel 3.2.2.2). Dieser zeigte nach etwa 2,5 Monaten Meloxicam-Gabe zunächst Inappetenz und Diarrhoe ohne Vorliegen von Meläna oder Hämatochezie, die nach Absetzen des Präparates zunächst etwas gelindert wurden. Der Patient entwickelte jedoch innerhalb von drei Tagen ein zunehmend schlechter werdendes Allgemeinbefinden. In einer erneuten Blutuntersuchung durch den Haustierarzt wurde insbesondere eine Leukozytose (24 G/l) und eine Verschlechterung der Hypoalbuminämie (1,9 g/dl) festgestellt. Auf Besitzerwunsch wurde der Patient nachfolgend durch den Haustierarzt euthanasiert. Da bereits initial eine Hypoalbuminämie ohne klinische Symptomatik vorlag, ist eine Vorerkrankung des Magen-Darm-Traktes denkbar, die möglicherweise durch den Einfluss der Meloxicam-Gabe verstärkt wurde. Die zugrunde liegende Erkrankung blieb jedoch aufgrund fehlender weiterführender Untersuchungen bzw. einer Sektion unbekannt. Dies zeigt eindrücklich, dass initiale Laboruntersuchungen vor einer medikamentellen

²⁵ Gebrauchsinformation für Metacam[®] 1,5 mg/ml Suspension zum Eingeben für Hunde, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH

Dauertherapie mit NSAIDs essentiell sind und bei diesem Patient aufgrund unglücklicher Umstände nicht ausreichend Beachtung fanden.

Nebenwirkungen der Bestrahlungstherapie

Eine detaillierte Beurteilung akuter und chronischer strahleninduzierter Nebenwirkungen war aufgrund des Studiendesigns nicht möglich, so dass keine quantitative und qualitative Beurteilung vorgenommen wurde. Besitzer- bzw. Haustierarztbefragungen und eigene Untersuchungen zeigten jedoch einen beträchtlichen Anteil an Bestrahlungsnebenwirkungen, die sich insbesondere im Bereich okularer Strukturen manifestierten.

Publizierte Daten über okulare Nebenwirkungen nach kurativer ⁶⁰Cobalt-Bestrahlung im Kopfbereich von Hunden mit intranasalen oder intrakraniellen Tumoren von JAMIESON et al. (1991) bestätigten einen hohen Anteil solcher Nebenwirkungen (84%), die häufig zu einer Einschränkung des Visus führten (57%) und damit auch die Lebensqualität der Patienten beeinflussten. Diese schwerwiegenden, das Sehvermögen herabsetzenden Nebenwirkungen waren meist chronischer Natur und traten insbesondere bei Hunden auf, die Überlebenszeiten von über sechs Monaten aufwiesen (73%).

Schmerzhafte und teilweise zur Erblindung führende okulare Nebenwirkungen sind zudem aus der Humanmedizin hinreichend bekannt (JAMIESON et al., 1991).

Beim Hund kommt es an okularen Strukturen überwiegend zu einer milden Konjunktivitis und/oder einer Keratokonjunktivitis sicca. Letztere wird definiert als Reduktion der Tränenflüssigkeit auf unter 5 mm/min im Schirmer Tränentest, die in Konjunktiva- oder Korneaveränderungen resultieren kann (JAMIESON et al., 1991). Nach dieser Definition entwickelten drei von 14 untersuchten Patienten der vorliegenden Studie eine chronische Keratokonjunktivitis sicca. Verminderte Werte (<15 mm/min) traten jedoch bei einem deutlich höheren Anteil (11/14 Patienten), meist erst mehrere Wochen nach Bestrahlungsende, auf. Aufgrund einer guten prophylaktischen Versorgung mit Tränenersatzstoffen kam es jedoch nur selten zu schwerwiegenden entzündlichen Erscheinungen.

Bedauerlicherweise sind diese okularen Nebenwirkungen häufig mehr oder weniger therapieresistent (JAMIESON et al., 1991), was sich auch in dieser Studie bestätigte. Eine Regeneration chronischer Nebenwirkungen bleibt in der Regel aufgrund einer anhaltenden Zelldegeneration oder einer Zerstörung der regenerativen Zellschichten

aus (CHING et al., 1990). Daher ist eine bestmögliche Prophylaxe solcher strahleninduzierten und vor allem irreversiblen Nebenwirkungen essentiell.

Durch eine Dosisreduktion im Bereich der Augen im Rahmen einer speziellen Bestrahlungstechnik konnte in einer Studie nach hypofraktionierter Bestrahlung mit 32 Gy in Einzelfractionen á 8 Gy, das Auftreten von Nebenwirkungen, insbesondere chronischer Art, weitestgehend verhindert werden. So trat lediglich bei einem von 63 Hunden eine oronasale Fistel als chronische Nebenwirkung nach einem Jahr auf. Akut kam es zu nicht therapiebedürftigen Hautveränderungen (Alopezie oder Hyperpigmentation) sowie geringgradigen Konjunktividen (MARUO et al., 2010). Durch eine Optimierung der Bestrahlungsfelder kann somit auch bei hypofraktionierter Bestrahlung mit hohen Einzeldosen eine deutliche Reduktion der therapieassoziierten Nebenwirkungen erzielt werden.

Akute Nebenwirkungen, die innerhalb von 4 Wochen auftreten, manifestieren sich meist als okulare oder dermale Reaktionen. Am häufigsten wurde in dieser Studie über eine akute (Kerato)Konjunktivitis (n=11), oft vergesellschaftet mit einem Blepharospasmus und einer Photophobie sowie über eine Dermatitis und/oder Alopezie im Bestrahlungsfeld berichtet. Dermal Reaktionen traten hierbei insbesondere im periokularen Bereich auf, so dass sich dieser als vermehrt strahlensensibel darstellte. Zwei Patienten zeigten eine akute Rhinitis nach Bestrahlungsabschluss sowie ein weiterer Patient eine mittelgradige Gingivitis am Oberkiefer, der in das Bestrahlungsfeld involviert war. Eine publizierte retrospektive Untersuchung berichtete über akute Nebenwirkungen nach einem vergleichbaren Bestrahlungsprotokoll bei 35% der Patienten, die vor allem eine orale Mukositis, Konjunktivitis, Dermatitis und Uveitits umfassten (GIEGER et al., 2008). Hierbei ist aufgrund des retrospektiven Charakters zu bedenken, dass ebenfalls keine standardisierten Nachkontrollen stattfanden und daher vermutlich ein unbekannter Anteil akuter Nebenwirkungen nicht bekannt wurde.

In einer Studie von CHING et al. (1990) entwickelten alle 37 kurativ bestrahlten Hunde mit Nasentumoren eine akute Blepharitis, Keratokonjunktivitis und Atrophie des Korneaepithels. Die akuten Nebenwirkungen in der vorliegenden Studie waren daher erwartet und wurden bereits zu Beginn der Therapie durch prophylaktischen Einsatz von Augensalben eingeschränkt. Insgesamt war die Ausprägung gering und

temporär, so dass keine bedeutsame Einschränkung der Lebensqualität der Patienten zu erkennen war.

Kortikosteroid-haltige Ophthalmologika wurden trotz des entzündlich erscheinenden Charakters der Nebenwirkungen nicht eingesetzt, da ursächlich ein direkter inhibitorischer Effekt auf die basale korneale und konjunktivale Stammzellschicht vorliegt, wodurch der physiologische Zellerneuerungszyklus für 2-4 Wochen unterbrochen wird. Allerdings kann aus dieser Stammzellschicht-Beeinträchtigung auch eine permanente Atrophie mit sekundärer Keratokonjunktivitis resultieren (CHING et al., 1990; JAMIESON et al., 1991). Dabei sind erfahrungsgemäß die zentral im Bestrahlungsfeld liegenden nasalen Augenpartien stärker betroffen als temporale Bereiche (CHING et al., 1990).

Untersuchungen der hinteren Augenareale mittels Spaltlampe oder indirekter Ophthalmoskopie fanden nicht statt, so dass insbesondere Auswirkungen auf die Retina nicht beurteilt wurden.

Chronische Nebenwirkungen, die sich nach über 4 Wochen manifestierten, betrafen ebenfalls insbesondere okulare und dermale Strukturen. Hierbei fiel in dieser Studie insbesondere eine reduzierte Tränenproduktion, teilweise mit sekundärer Keratokonjunktivitis, auf. Diese trat teilweise unmittelbar oder kurzfristig nach Therapieende durch eine direkte Wirkung auf die überwiegend dorsal des Augapfels liegenden tränenproduzierenden Strukturen oder auch erst nach wenigen Monaten, vermutlich durch eine permanente Atrophie der Drüsen oder eine Gefäßschädigung, auf.

Die Auswirkungen der trockenen Augen stellen, vor allem untherapiert, oft eine deutliche Einschränkung der Lebensqualität dar und können zudem das Sehvermögen einschränken (JAMIESON et al., 1991). Daher ist es bei Bestrahlungen im Kopfbereich essentiell, die Tränenproduktion regelmäßig zu überwachen und aufgrund der hohen Inzidenz bereits prophylaktisch eine Minderproduktion zu behandeln.

Eine histologische Untersuchung von JAMIESON et al. (1991) konnte an zwölf bestrahlten Augen Veränderungen im kranialen Bereich des Augapfels nachweisen, die überwiegend eine Atrophie der kornealen Substantia propria und chronische Entzündungen der Kornea und der Meibomschen Drüsen umfassten. Der kaudale Bereich der Augäpfel war für eine Untersuchung nicht verfügbar.

Spät auftretende Nebenwirkungen, wie eine strahleninduzierte Katarakt oder Retinaveränderungen, wurden in der vorliegenden Studie nicht gezielt untersucht, sind aus der Literatur jedoch bekannt und treten meist langsam progressiv sowie häufig dosisabhängig auf. Im Gegensatz zur altersbedingten Katarakt beginnt die strahleninduzierte Katarakt meist im hinteren oder äquatorialen subkapsulären und kortikalen Bereich der Linse innerhalb von 6-12 Monaten nach Bestrahlungsabschluss. Beim Menschen ist ebenfalls eine langsame Progression über einen variablen Zeitraum, meist aber 2-4 Jahre, bekannt (CHING et al., 1990). Bei Patient Nr. 15, der eine überdurchschnittliche Überlebenszeit aufwies, konnten Hinweise auf eine Katarakt festgestellt werden, deren Verlauf und Lokalisation innerhalb der Linse jedoch nicht detailliert kontrolliert wurde. Zudem zeigten bereits viele Patienten zu Therapiebeginn Anzeichen einer beginnenden (altersbedingten) Katarakt, die durch den hohen Altersdurchschnitt der Patienten zu begründen war.

Bei den unterschiedlichen Spätreaktionen scheinen Gefäßveränderungen ursächlich eine große Rolle zu spielen, wobei die Schwere der Veränderungen insbesondere von der Höhe der Einzelbestrahlungsdosen statt der Gesamtdosis abhängt (JAMIESON et al., 1991). Aus diesem Grund ist eine Reduktion der okularen Nebenwirkungen bei hypofraktionierter Bestrahlung, trotz der deutlich geringeren Gesamtdosis, nicht zu erwarten. In einer prospektiven Studie mit Gesamtdosis von 36-67,5 Gy und Einzelfraktionen von 1,5-4,5 Gy zeigte sich, dass keine Korrelation der okularen Nebenwirkungen mit den jeweiligen Dosierungen bestand. Jedoch schienen Gefäßdegenerationen bei höheren Fraktionsdosen schneller und stärker zu chronischen Veränderungen zu führen. Insgesamt zeigten die Nebenwirkungen einen vergleichbaren zeitlichen Verlauf und eine Zunahme in Schweregrad und Chronizität über die Zeit (CHING et al., 1990), so dass auch bei hypofraktionierter Bestrahlung mit vergleichbaren chronischen Nebenwirkungen, wie sie von kurativen Bestrahlungsprotokollen bekannt sind, gerechnet werden muss.

Dermale chronische Nebenwirkungen manifestierten sich in dieser Studie vor allem in Form einer Leukotrichie, Alopezie, Hyperpigmentation und/oder Lichenifikation, wobei diese auch hier durch den Übergang aus den akuten Veränderungen insbesondere periokular auftraten. Diese Nebenwirkungen stellen typische

Spätfolgen einer palliativen als auch kurativen Bestrahlungstherapie dar (GIEGER et al., 2008), führen aber in aller Regel zu keiner Einschränkung der Lebensqualität. Bei Einbeziehung des Nasenspiegels in das Bestrahlungsfeld konnte bei den Studienpatienten häufig eine trockene und rissige Alteration der kutanen Schleimhaut beobachtet werden. Diese Bereiche können durch die Patientenbesitzer unterstützend mit pflegenden Salben behandelt werden, um die Haut elastischer zu halten und so das Entstehen von Hautfissuren und Entzündungen zu vermeiden.

Chronische Nebenwirkungen wie Osteonekrosen, Fisteln oder Rhinitiden konnten bei keinem der Studienpatienten beobachtet werden. Ebenfalls musste aufgrund der Bestrahlungsnebenwirkungen weder ein Therapieabbruch stattfinden noch kam es zu Nebenwirkungen, die eine Euthanasie notwendig machten oder den Tod des Patienten verursachten. Daher kann man bei Betrachtung des Nutzen-Risiko-Verhältnisses von einem akzeptablen Nebenwirkungsspektrum sprechen. Jedoch sollte auch in Zukunft insbesondere eine bessere Schonung der empfindlichen okularen Strukturen angestrebt werden. So zeigten JAMIESON et al. (1991), dass eine Aussparung der Augen mittels eines Blocks zu einer Verhinderung der Nebenwirkungen bei Bestrahlung im Kopfbereich führte. Daher sollte dies, wann immer unter Berücksichtigung des Therapieziels möglich, erfolgen, wobei auch der Schutz der Tränendrüsen beachtet werden sollte. Bei Einsatz eines gewebeäquivalenten Bolus im Hautbereich sollte zudem zwingend auf eine Schonung der sensiblen okularen Strukturen geachtet werden.

Aufgrund der hohen Inzidenz okularer Nebenwirkungen nach einer Bestrahlungstherapie ist eine adäquate Besitzeraufklärung essentiell und sollte die Bereitschaft zu einer prophylaktischen und oft permanenten Therapie sowie gegebenenfalls regelmäßigen tierärztlichen ophthalmologischen Kontrollen fördern. Dies gilt insbesondere für Patienten in einem frühen Tumorstadium, da diese häufig überdurchschnittliche Überlebenszeiten erreichen können.

4.2.8 Progressionsfreie Zeit

Die mediane progressionsfreie Zeit aller Patienten dieser klinischen Anwendungsstudie lag bei 147 Tagen, so dass sich ein deutlicher Unterschied zu der medianen Überlebenszeit von 214 Tagen zeigte. Dieser Zeitrahmen bis zum Eintreten einer Symptomprogression deckt sich mit dem Resultat bei einer größeren

Fallzahl (n=48) hypofraktioniert bestrahlter Hunde mit intranasalen Karzinomen, bei denen die mediane progressionsfreie Zeit 120 Tage betrug (GIEGER et al., 2008).

Da auch Langzeitwirkungen, wie beispielsweise bei Patient Nr. 15 mit 545 Tagen progressionsfreier Zeit, möglich sind, kann in Einzelfällen eine erneute Bestrahlung der Patienten in Betracht gezogen werden (GIEGER et al., 2008). Eine Nachbestrahlung wurde auch im Rahmen der vorliegenden Studie bei drei Patienten durchgeführt, wodurch es erneut bei allen drei Patienten zu einem deutlichen Symptommrückgang kam. Auf diese Weise erreichten die Patienten überdurchschnittliche Überlebenszeiten von 329 und 392 Tagen bzw. lebten zum Studienendpunkt nach 639 Tagen weiterhin. Es erscheint somit nach individueller Abwägung des Nutzen-Risiko-Verhältnisses in Einzelfällen durchaus sinnvoll, Nasentumoren nach einem längeren Zeitraum der Symptomlinderung bei erneuter Progression nachzubestrahlen. Dabei sollte jedoch immer die zunehmende Gefahr für die Entstehung chronischer Nebenwirkungen bedacht werden (HERRMANN et al., 2006; WITHROW und VAIL, 2007). Bei den intranasalen Tumoren betrifft dies aufgrund der Lokalisation insbesondere die strahlensensiblen okularen Strukturen, da hier vor allem die Gefahr einer hochgradigen, irreversiblen Tränenminderproduktion mit einhergehender Gefahr einer Keratokonjunktivitis sicca sowie einer Kataraktentstehung oder Retinadegeneration besteht (siehe Kapitel 2.3.3.6). Bei guter Besitzer-Compliance kann die klinische Ausprägung einer Keratokonjunktivitis sicca durch einen regelmäßigen Tränenersatz in Form von Augensalben oder -tropfen weitestgehend verhindert werden. Jedoch tritt bei Patienten mit überdurchschnittlichen Überlebenszeiten häufig eine zunehmende Kataraktbildung ein, die eine progressive Visuseinschränkung des betroffenen Auges bedingen kann. Jedoch stellt die Kataraktbildung in der Regel keine unakzeptable Einschränkung der Lebensqualität dar und führt meist nur über einen langen Zeitraum zu einer deutlichen Seheinschränkung. Trotzdem sollte die Bestrahlung weitestmöglich so geplant werden, dass nicht beide Augen vollständig in das Bestrahlungsfeld involviert werden und dass die Augen im Rahmen der Nachbestrahlungen stärker geschont werden als bei der Erstbestrahlung. Dabei wird meist auch die Gesamtbestrahlungsdosis in einem angemessenen Rahmen reduziert. Bei den drei im Rahmen dieser Studie nachbestrahlten Hunden wurde eine Gesamtbestrahlungsdosis von 12-18 Gy in 2-3 Fraktionen á 6-8 Gy appliziert, wobei das Nachbestrahlungsprotokoll unter anderem abhängig von der Zeitspanne

zwischen der Erst- und Nachbestrahlung war. Allgemein sollte eine individuelle Nutzen-Risiko-Abschätzung durchgeführt werden, bei der eine Abwägung zwischen der allgemeinen Zielsetzung, der anzustrebenden Symptomlinderung und des zu erwartenden Nebenwirkungsrisikos erfolgt.

Statistisch signifikante Einflussgrößen auf die progressionsfreie Zeit, die in dieser Studie zum einen das Tumorstadium und zum anderen bestimmte Tumorarten (Adenokarzinom und Chondrosarkom) darstellten, werden in den entsprechenden Kapiteln (siehe Kapitel 4.2.3 und 4.2.4) besprochen.

4.2.9 Überlebenszeit

Bei der Beurteilung der Überlebenszeit ist zu bedenken, dass eine große Variabilität seitens der Besitzer und behandelnden Tierärzte bezüglich der Akzeptanz klinischer Symptome oder anderweitiger Tumor- bzw. Therapieauswirkungen vorliegt, die die individuelle Überlebenszeit der Patienten stark beeinflusst. Somit sind diese Daten immer nur unter Berücksichtigung dieser Variabilität beurteilbar und nur eingeschränkt vergleichbar. Hierzu sei beispielhaft Patient Nr. 9 genannt, der unter einem weit fortgeschrittenen Chondrosarkom litt und 392 Tage nach Behandlungsbeginn und zusätzlicher Nachbestrahlung eines natürlichen Todes verstarb. Aufgrund eines überwiegend offenen und rezidivierend blutenden Durchbruchs in die Unterhaut bei gleichzeitig nahezu vollständiger Involvierung der Nasen- und Stirnhöhlen wurde in der Endphase der Erkrankung mehrfach eine Euthanasie angeraten, die jedoch von Besitzerseite abgelehnt wurde. Andere Patienten hingegen wurden bereits bei deutlich geringerer Symptomatik und Beeinflussung der Lebensqualität des Patienten euthanasiert. Bei den meisten Patienten liegt daher kein standardisierter Endpunkt, wie der natürliche Tod, vor. Vielmehr wird durch die meisten Besitzer die Euthanasie als schmerzfreie, tierschutzgerechte Möglichkeit der Leidensbekämpfung bei progressiver Erkrankung mit mehr oder weniger deutlicher Einschränkung der Lebensqualität der Patienten in Anspruch genommen. Im Gegensatz zu der Situation in humanmedizinischen Untersuchungen handelt es sich daher in veterinärmedizinischen Studien meist um subjektiv und individuell festgelegte Endpunkte einer Erkrankung.

Die mediane Überlebenszeit der Patienten dieser Studie lag bei 214 Tagen (Streubreite 57-639 Tage). Eine statistische Auswertung potentieller Einflussgrößen auf die Überlebenszeit wurde lediglich zur Evaluierung von Tendenzen durchgeführt,

erlaubte aber aufgrund der geringen Fallzahlen keine umfassende Beurteilung. Im Rahmen dieser Auswertung wurde ein statistisch signifikanter Einfluss des Tumorstadiums auf die Überlebenszeit festgestellt (siehe Kapitel 4.2.4).

Bei näherer Betrachtung der neun Studienpatienten, die länger als 300 Tage nach Therapiebeginn überlebten, fiel auf, dass sich darunter drei der fünf Patienten mit partieller Tumorremission nach Meloxicam-Monotherapie befanden. Insgesamt sind die Daten dieser neun Patienten (siehe **Tabelle 10-28** im Anhang) jedoch sehr unterschiedlich. Aufgrund der Resultate der statistischen Auswertung in Bezug auf den Einfluss des Tumorstadiums auf die Überlebenszeit erscheint es jedoch nicht unerwartet, dass sich kein Patient in Tumorstadium IV befand. Bei Berücksichtigung der Tumorart waren lediglich zwei Fälle, ein Chondrosarkom und ein Adenokarzinom, festzustellen, die laut Literatur eine höhere Chance auf Langzeitüberlebenszeiten haben (ADAMS et al., 1987; THEON et al., 1993; YOON et al., 2007). Vielmehr fiel ein relativ hoher Anteil undifferenzierter Tumorarten (n=5) auf, bei denen meist deutliche Malignitätskriterien festzustellen sind. Von diesen fünf undifferenzierten Tumoren befanden sich jedoch drei in einem frühen Tumorstadium (Stadium I), so dass dadurch ein begünstigender Einfluss auf die Überlebenszeiten zu vermuten ist. Insgesamt fiel ein hoher Anteil von Patienten (n=5) auf, die sich in Tumorstadium I befanden.

Einfluss der hypofraktionierten Bestrahlungstherapie

Zurzeit liegt eine Vergleichsgrundlage zur Beurteilung der Überlebenszeit in Form von acht Publikationen mit mehr oder weniger großen Fallzahlen vor, die ebenfalls eine hypofraktionierte Bestrahlung bei kaninen Nasentumoren durchgeführt haben (Details siehe **Tabelle 10-29** im Anhang).

Die höchsten Patientenzahlen lagen bei 63 Hunden (MARUO et al., 2010), 56 Hunden (MELLANBY et al., 2002) sowie 48 Hunden (GIEGER et al., 2008), während in den meisten anderen Studien maximal 25 Patienten involviert waren (MORRIS et al., 1994; SCHWIETZER et al., 2005; YOON et al., 2007; SCHWIETZER, 2008). Die medianen Überlebenszeiten nach hypofraktionierter Bestrahlung mit einer Gesamtbestrahlungsdosis von etwa 24-36 Gy lagen bei 146-441 (63 Wochen) Tagen, wobei der überwiegende Anteil 146-214 Tage überlebte (MELLANBY et al., 2002; GIEGER et al., 2008; SCHWIETZER, 2008;

BELSHAW et al., 2009; MARUO et al., 2010). Das Ergebnis dieser klinischen Anwendungsstudie von 214 Tagen medianer Überlebenszeit korreliert somit mit diesen Resultaten, indem es an deren oberen Grenze liegt.

Auffällig ist, dass trotz sehr ähnlicher Voraussetzungen (Bestrahlungsregime, Tumorarten) in den beiden ersten Studien (MORRIS et al., 1994; MELLANBY et al., 2002) sehr unterschiedliche mediane Überlebenszeiten (441 bzw. 212 Tage) berichtet wurden. Die vorliegenden Tumorstadien waren bei MORRIS et al. (1994) nicht bekannt, während bei MELLANBY et al. (2002) überwiegend unilaterale Tumoren mit Knochendestruktionen bei etwa einem Viertel der Patienten, also überwiegend frühe Tumorstadien, vorlagen. Der große Unterschied in der medianen Überlebenszeit überrascht daher, jedoch ist die geringe Fallzahl (n=12) in ersterer Studie als wichtiger Einflussfaktor zu beachten. Generell wäre bei diesen beiden Studien zu erwarten, dass aufgrund der Bestrahlungsplanung anhand von Röntgenbildern und der Bestrahlung mittels eines einzelnen dorsalen Bestrahlungsfeldes und der damit einhergehenden schlechteren Dosisverteilung (WITHROW und VAIL, 2007) niedrigere Überlebenszeiten im Vergleich zu den neueren Methoden vorliegen. Dies ist jedoch nicht der Fall, was möglicherweise an den vergleichsweise geringen Tumorstadien bzw. der geringen Fallzahl behandelter Hunde liegen könnte.

Ein Vergleich zeigt zudem, dass die hypofraktionierte Bestrahlung mit adjuvanter Meloxicam-Therapie im Rahmen dieser Studie zu Resultaten im oberen Bereich der publizierten Ergebnisse führte. Ob dies zufällig bedingt ist oder eine Tendenz zu einer Verbesserung der Überlebenszeit vorliegt, ist aufgrund der geringen Fallzahl nicht zu beurteilen. Insgesamt spielt jedoch das Tumorstadium vermutlich die größte einflussnehmende Rolle, während die COX-2 Hemmung individuell und bei bestimmten Tumoreigenschaften eine mehr oder weniger große Rolle zu spielen scheint. Die Kriterien für eine individualisierte Therapie(empfehlung) sind jedoch noch zu wenig definiert, als dass auf dieser Grundlage Empfehlungen für oder wider einen adjuvanten therapeutischen Einsatz von NSAIDs ausgesprochen werden könnten. Aufgrund des wissenschaftlichen Kenntnisstandes, der bisherigen Erfahrungen im antitumorösen Einsatz und zur Symptomlinderung, der guten Verträglichkeit und der Resultate der immunhistochemischen Studie und klinischen Anwendungsstudie erscheint deren Einsatz jedoch sinnvoll und risikoarm.

Einfluss des Tumorstadiums

Im Rahmen der statistischen Auswertung dieser klinischen Anwendungsstudie zeigte sich, dass lediglich das Tumorstadium einen statistisch signifikanten Einfluss auf die Überlebenszeit einnahm (p-Wert je nach Auswertungsschema 0,016-0,034). Dabei zeigte sich insbesondere eine schlechtere Prognose für Patienten in Tumorstadium IV, die somit eine Destruktion der kribriformen Platte aufwiesen. Ähnliche Erkenntnisse sind bereits in der Literatur beschrieben worden (ADAMS et al., 2009). Bei Differenzierung der medianen Überlebenszeiten nach Tumorstadien (siehe **Tabelle 10-30** im Anhang) wurde ersichtlich, dass Patienten in Tumorstadium III mit einer medianen Überlebenszeit von 254 Tagen deutlich länger überlebten als Patienten in Tumorstadium IV mit median 141 Tagen. Für Patienten in Tumorstadium I war es aufgrund des hohen Zensierungsgrades der Daten nicht möglich, die mediane Überlebenszeit zu berechnen. Dies und die Streubreite von 96-470 Tagen deuteten jedoch bereits auf überdurchschnittliche Überlebenszeiten hin, insbesondere da alle Patienten mindestens für 365 Tage nach Therapiebeginn beobachtet wurden. Damit wiesen fünf der sieben Patienten im Tumorstadium I Überlebenszeiten von über einem Jahr auf.

Die Studien von GIEGER et al. (2008) und MARUO et al. (2010) beinhalteten einen sehr hohen Anteil von Patienten mit Einbruch in den Nasopharynx und/oder die kribriforme Platte (Definition als Tumorstadium IV). In diesen Studien lagen die medianen Überlebenszeiten bei 146 bzw. 197 Tagen, wobei kein signifikanter Einfluss des Tumorstadiums nachgewiesen werden konnte. Diese Ergebnisse korrelieren jedoch mit den vorliegenden Resultaten und könnten daher den Einfluss des Tumorstadiums unterstützen.

Da das Tumorstadium auch in anderen Publikationen (NORTHRUP et al., 2001; ADAMS et al., 2009) eine signifikante Auswirkung auf die Überlebenszeit zeigte, bietet sich der Vergleich mit der Studie von SCHWIETZER (2008) an, in der eine ähnliche Verteilung der Tumorstadien vorlag und ein vergleichbares Bestrahlungsprotokoll, jedoch mit adjuvanter Carboplatin-Chemotherapie, angewendet wurde. Dabei waren unterschiedliche mediane Überlebenszeiten (214 Tage bzw. 156 Tage) festzustellen, wobei das Tumorstadium lediglich in der vorliegenden Studie einen nachweisbaren signifikanten Einfluss auf die Überlebenszeit hatte. Insgesamt waren die Fallzahlen der beiden Studien mit jeweils 25 Patienten jedoch gering, so dass eine Beurteilung der Vor- oder Nachteile einer

adjuvanten Chemotherapie oder Meloxicam-Gabe schwierig erscheint. Diese Ergebnisse sollten sich daher als Tendenzen verstehen, die an größeren Fallzahlen und in plazebo-kontrollierten Studien weiter untersucht werden sollten.

Einfluss der COX-2 Expression

Die einzige Untersuchung, die bereits den Einfluss einer COX-2 Expression intranasaler Karzinome auf die Überlebenszeit nach hypofraktionierter Bestrahlung evaluiert hat, ist die Untersuchung von BELSHAW et al. (2009). Diese zeigte, dass keine statistisch signifikante Korrelation zwischen dem vorliegenden COX-2 Score und der Überlebenszeit vorlag.

Im Rahmen dieser Untersuchung wurde kein signifikanter Unterschied in der medianen Überlebenszeit (214 bzw. 210 Tage) zweier vergleichbarer Patientengruppen, die entweder mit hypofraktionierter Bestrahlung oder einer Kombinationstherapie aus Meloxicam und einem Antibiotikum behandelt wurden, festgestellt. Da die mediane Überlebenszeit von 210 Tagen für die palliativ mit Meloxicam und einem Antibiotikum (überwiegend Amoxicillin-Clavulansäure-Präparate) behandelte Gruppe von 27 Hunden deutlich über den publizierten Daten von 95 Tagen für unbehandelte Hunde lag (RASSNICK et al., 2006), kann dies auf einen positiven Effekt dieser Kombination oder einer der Wirkstoffe hinweisen. Für einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen der COX-2 Expression und der Überlebenszeit lagen auch in unserer Studie keine Hinweise vor (siehe Kapitel 3.2.2.10). Damit ist jedoch ein Einfluss der COX-2 Expression auf die Überlebenszeit ohne Einsatz eines COX-hemmenden Wirkstoffs nicht auszuschließen.

Eine Korrelation zwischen dem biologischen Tumorverhalten und einer COX-2 Expression ist bisher insbesondere bei unterschiedlichen Mammakarzinomen nachgewiesen worden, wodurch auch eine Beeinflussung der Prognose zu erkennen war (MILLANTA et al., 2006; LAVALLE et al., 2009). Eine schlechtere Prognose bei Tumoren mit COX-2 Expression ist auch in der Humanmedizin bekannt (GAFFNEY et al., 2001; YAMAUCHI et al., 2002). Die in der vorliegenden immunhistochemischen Studie erhobenen Befunde deuteten ebenfalls darauf hin, dass die COX-2 Expression mit zunehmender Malignität ansteigt, da insbesondere undifferenzierte Formen und Plattenepithelkarzinome hohe COX-2 Werte aufwiesen. Dies konnte in der klinischen Anwendungsstudie an einer kleineren Fallzahl nur zum Teil bestätigt werden. Aufgrund des bisherigen Wissensstandes ist jedoch zu

vermuten, dass die Prognose durch die COX-2 Expression beeinflusst werden kann, was an einer größeren und homogenen Patientengruppe bestätigt werden müsste. Wichtig wäre dabei, Patienten gleicher Tumorstadien zu vergleichen, um den Einfluss dieses prognostischen Faktors weitestgehend auszuschließen.

Generell ist aufgrund der biologischen Wirkung zu erwarten, dass eine COX-2 Expression wachstumsfördernd auf Tumoren wirkt (siehe Kapitel 2.2.3.1), so dass durch eine Hemmung des Enzyms auch eine Hemmung des Wachstums möglich sein könnte. Hierbei ist jedoch unklar, welche Faktoren in welchem Ausmaß Einfluss auf einen Therapieerfolg haben. Denkbar sind beispielsweise folgende Einflussfaktoren:

- 1) **Anzahl COX-2 positiver Zellen:** Je mehr Zellen COX-2-exprimierend sind, desto größer sollte der Angriffspunkt für eine Therapie mit NSAIDs sein. Daher besteht Grund zur Annahme, dass Tumoren mit einem hohen Verteilungsscore besser auf eine NSAID-Therapie ansprechen könnten. Im Gegensatz dazu wäre jedoch auch denkbar, dass bestimmte Subpopulationen, wie beispielsweise Tumorstammzellen oder andere stark proliferative Zellen, vermehrt COX-2-exprimierend sind. In diesem Fall könnte auch der Einfluss auf eine geringe Tumorzellzahl deutliche therapeutische Effekte nach sich ziehen. Da eine Etablierung von Resistenzen nicht ausgeschlossen werden kann, ist es zudem denkbar, dass trotz großer COX-2-exprimierender Zellzahlen kein wahrnehmbarer Therapieeffekt eintreten könnte.
- 2) **Intensität der COX-2 Expression:** Je mehr COX-2 gebildet und freigesetzt wird, desto größer ist vermutlich die Enzymaktivität, die durch die Therapie gehemmt werden muss, um einen erkennbaren Nutzen zu erzielen. Somit ist es denkbar, dass es in solchen Fällen zu einer unzureichenden Konzentration der NSAIDs am intrazellulären Wirkort kommen kann. Andererseits kann eine intensive COX-2 Expression auch darauf hindeuten, dass diese einen entscheidenden Einflussfaktor für das Tumorwachstum darstellt und somit eine hohe Wahrscheinlichkeit vorliegt, mithilfe eines NSAIDs das Tumorwachstum hemmen zu können.
- 3) **Enzymaktivität:** Eine COX-2 Expression durch Tumoren kann nicht zwangsläufig mit einer PGE₂-Produktion gleichgesetzt werden, wobei PGE₂

vermutlich die prokanzerogene Wirkung vermittelt (HAYES, 2007). Dass bei Tumoren mit COX-2 Expression auch PGE₂ gebildet wird und somit ein funktionelles Enzym vorliegt, konnte bereits bei verschiedenen Tumorarten nachgewiesen werden (MOHAMMED et al., 2001). Trotzdem ist immer wieder festzustellen, dass keine Korrelation zwischen einer COX-2 Expression und dem Ansprechen auf eine NSAID-Therapie vorliegt, so dass auch eine Inaktivität des Enzyms in Betracht gezogen werden muss.

- 4) **Tumorstadium:** Je weiter der Tumor und damit in der Regel auch das Tumolvolumen fortgeschritten ist, desto schwieriger kann der therapeutische Einfluss auf die Gesamtheit der COX-2-exprimierenden Zellen werden. Da sich die Zellzahl anfangs exponentiell vermehrt, können schon kleine Größenunterschiede deutliche Unterschiede in den Zellzahlen bedeuten und gegebenenfalls für zu geringe Konzentrationen des Wirkstoffs verantwortlich sein. Bei sehr großen Tumoren hingegen sind weitere Einflussfaktoren auf die Konzentration des Wirkstoffs am Wirkort denkbar, da beispielsweise durch eine unzureichende Angiogenese eine Minderdurchblutung vorliegen und somit das Anfluten des Wirkstoffs in einigen Tumorbereichen erschwert werden könnte.

Bereits aus den Anfängen der COX-2 Untersuchungen ist bekannt, dass durch langfristige Einnahme eines NSAIDs in geringer Dosierung eine deutliche Reduktion des Tumorrisikos bestimmter, häufig COX-2-exprimierender Tumoren zu erzielen ist (DORE, 2011). Die COX-2 Expression scheint insbesondere eine Rolle in der Präkanzerogenese bzw. frühen Kanzerogenese zu spielen (FOSSLIEN, 2000). Da bei zunehmendem Tumolvolumen eine immer größere Anzahl an Tumorzellen im Ruhezustand, das heißt nicht-proliferativ vorliegt, ist von einem zunehmend geringeren COX-2 Einfluss auszugehen. Dies würde erklären, dass bisher überwiegend präventive Erfolge durch einen antitumorösen Einsatz von NSAIDs erzielt werden konnten. Dies stellt jedoch keinen therapeutischen Ansatz für die Nasentumorthherapie dar, da keine Hochrisikofaktoren oder frühe Indikatoren bekannt sind. Generell wäre es jedoch interessant zu untersuchen, ob Patienten, die dauerhaft mit einem NSAID, beispielsweise aufgrund von Arthrosebeschwerden, behandelt werden, ebenfalls ein geringeres Risiko für bestimmte Tumoren im Vergleich zu unbehandelten Hunden aufweisen. Auch ist denkbar, dass eine

Tumorrezidivierung nach Verkleinerung des Tumorumfanges, beispielsweise durch einen chirurgischen Eingriff oder eine Bestrahlungs- oder Chemotherapie, durch den Einsatz eines NSAIDs verzögert werden kann. Beide Aspekte wurden in der Veterinärmedizin bisher noch nicht umfassend untersucht und stellen sehr interessante Fragestellungen dar.

Einfluss der Tumorart

Im Gegensatz zur progressionsfreien Zeit zeigte sich kein signifikanter Einfluss der Tumorart auf die Überlebenszeit, was auch in früheren Publikationen festgestellt wurde (MORRIS et al., 1994; YOON et al., 2007; ADAMS et al., 2009). Längere Überlebenszeiten wurden in einzelnen Studien bei Adenokarzinomen oder Sarkomen nachgewiesen (ADAMS et al., 1987; THEON et al., 1993), konnten jedoch in anderen Studien nicht bestätigt werden (ADAMS et al., 1998; LA DUE et al., 1999; YOON et al., 2007).

Einfluss der Tumorremission

Laut Literatur stellt das Ansprechen auf die Therapie eines der wichtigsten prognostischen Kriterien für die Überlebenszeit dar, so dass ein vollständiger Symptommrückgang mit der Chance auf eine überdurchschnittliche Überlebenszeit verbunden ist. GIEGER et al. (2008) zeigten, dass Patienten mit vollständigem Symptommrückgang median 255 Tage nach Bestrahlungstherapie überlebten, während andere Patienten median lediglich 42 Tage überlebten. Zudem ist bei ersterem Patientenkollektiv nach späterer, wiederholter Bestrahlungstherapie in 82% eine erneute vollständige Symptomremission erzielt worden. Auch THRALL et al. (1993) zeigten, dass Patienten mit deutlicher Tumorremission nach kurativer Bestrahlung länger (median 389 Tage) überlebten als Patienten ohne einen deutlichen Tumorrückgang (median 161 Tage).

Bei Betrachtung der individuellen Tumorremissionen nach hypofraktionierter Bestrahlungstherapie sowie der korrespondierenden Überlebenszeiten (siehe **Tabelle 10-31** im Anhang) fiel jedoch auch in der vorliegenden Studie auf, dass Patienten in Tumorstadium I deutlich stärkere Tumorremissionen (Mittelwert 65% Tumorrückgang) verzeichnen konnten und längere Überlebenszeiten aufwiesen als Patienten in höheren Tumorstadien (Mittelwert 34% bzw. 28%). Dieser Effekt war in dieser Studie aufgrund der geringen Fallzahl der Studienpatienten jedoch nur

eingeschränkt statistisch auswertbar. Der Patient mit dem deutlichsten Tumorrückgang (Patient Nr. 23) wies nach 401 Tagen kein Rezidiv der klinischen Symptomatik und kein Tumorwachstum auf, so dass er zum Studienendpunkt für die Auswertung zensiert wurde.

Einfluss des Patientenalters

Auch in dieser Studie konnte kein Zusammenhang zwischen dem Patientenalter und der Überlebenszeit festgestellt werden, wie dies bereits in der Literatur postuliert wurde (YOON et al., 2007). Die für die Bestrahlungen und Computertomographien notwendigen Allgemeinanästhesien wurden von allen Patienten, trotz des meist hohen Alters, komplikationslos vertragen.

Einfluss der Dauer der klinischen Symptomatik

Einen interessanten Aspekt beschrieben GIEGER et al. (2008) in ihrer Publikation, da ihnen ein besseres Tumoransprechen bei Patienten aufgefallen war, die eine überdurchschnittlich (>90 Tage) lange Dauer der Tumorsymptomatik aufwiesen. Bei solchen Patienten ist zu erwarten, dass sie ein langsames Fortschreiten der Symptomatik aufwiesen, so dass eine Konsultation des Tierarztes erst spät notwendig erschien. Eine mögliche Ursache für die bessere Prognose könnte daher ein langsames Tumorwachstum mit dadurch bedingter besserer Oxygenierung und verminderter Tumorzell-Repopulation zwischen den Bestrahlungsfractionen darstellen.

4.3 Bewertung und Schlussfolgerung

Ziel der vorliegenden Studie war die Bewertung einer hypofraktionierten Bestrahlungstherapie mit adjuvanter Meloxicam-Gabe bei kaninen Nasentumoren als mögliche Therapiealternative zu den bisher überwiegend eingesetzten kurativen Bestrahlungsprotokollen, die über lange Zeit relativ uneingeschränkt als Therapie der Wahl galten. Jedoch nehmen der Wunsch und die Einsicht der Notwendigkeit individuellerer Therapieentscheidungen zu, so dass in den letzten Jahren vermehrt nach Alternativen gesucht wurde. Zudem sollte eine breitere Wissensgrundlage über die Expression des Enzyms COX-2 durch unterschiedliche intranasale Tumorarten geschaffen werden. Da sich ein Großteil der Nasentumor-Patienten aus überdurchschnittlich alten und teilweise multimorbiden Tieren zusammensetzt, die zudem häufig bereits weit fortgeschrittene Tumoren aufweisen, ist eine sinnvolle Kompromisslösung wünschenswert, um solchen Patienten eine Verbesserung der Lebensqualität bei gleichzeitiger Reduktion der Therapierisiken zu ermöglichen. Dabei sollte neben der Belastung und dem Risiko durch die Therapie, die auch eine entsprechende Anzahl an Anästhesien einschließt, auch der logistische Aufwand weitestmöglich minimiert werden. Die Erzielung einer adäquaten Verbesserung der tumorassoziierten Symptome und somit auch der Lebensqualität ist als vorrangiges Therapieziel, noch vor einer deutlichen Verlängerung der Überlebenszeit, zu sehen. Im Speziellen bedeutet dies, dass eine deutliche Reduktion der Bestrahlungsfractionen, einhergehend mit einer Reduktion des Narkoserisikos und des logistischen Aufwands, bei möglichst umfassender und unverzüglicher Verbesserung der klinischen Symptome im Vordergrund steht. Das Prinzip der hypofraktionierten Bestrahlung, das heißt einer deutlich geringeren Anzahl an Bestrahlungsfractionen bei ebenfalls reduzierter Gesamtbestrahlungsdosis, wurde bereits bei Nasentumor-Patienten beschrieben. Dabei deutete sich bereits an, dass auch auf diese Weise eine gute Kontrolle der Symptomatik erzielt werden kann und überwiegend deutliche Steigerungen der Überlebenszeiten im Vergleich zu unbehandelten Tieren erreicht werden können. Zwar konnten vergleichbare Überlebenszeiten, wie sie mit kurativer Bestrahlung gesehen werden, nicht in allen Studien für die palliative Therapie nachgewiesen werden, jedoch sind auch auf diese Weise Langzeitüberlebenszeiten möglich. Faktoren, die die Prognose deutlich verbessern sind größtenteils unbekannt. Jedoch scheint das Vorliegen von gut differenzierten Chondrosarkomen oder Adenokarzinomen, ein geringes

Tumorstadium und eine geringe COX-2 Expression vorteilhaft für den Patienten zu sein. Die Monotherapie mit Meloxicam führte bei 75% der Patienten zu einer Besserung der klinischen Symptomatik und des Allgemeinbefindens innerhalb von 6-26 Tagen. Zudem zeigten bereits fünf Patienten (21%) eine partielle Tumorremission. Aufgrund der überwiegend vorliegenden und ausgeprägten COX-2 Expression der Nasentumoren, insbesondere der Karzinome, erscheint der Einsatz eines NSAIDs als unterstützende Maßnahme sinnvoll und erfolgsversprechend. Da die Induktion der COX-2 Expression bereits in präkanzerogenen und frühen Tumorstadien eine entscheidende Rolle zu spielen scheint, wäre ein Einsatz dieser Therapie jedoch bereits in früheren Erkrankungsstadien wünschenswert. Dabei ist zu vermuten, dass auf diese Weise die Therapiewirkung gesteigert werden könnte. Aufgrund des sehr unspezifischen Symptombeginns der Nasentumoren wird dieser Zeitpunkt leider meist nicht als frühes Tumorstadium erkannt und die Diagnose erfolgt meist erst in weit fortgeschrittenen Stadien. Daher sind eine weitere Sensibilisierung der praktizierenden Tierärzte und Patientenbesitzer sowie eine breite Anwendung modernerer diagnostischer Möglichkeiten wünschenswert. In dieser Studie lag die mediane Überlebenszeit bei 214 Tagen, was die mediane Überlebenszeit (156 Tage) einer vergleichbaren Patientengruppe in der Studie von SCHWIETZER (2008) um nahezu ein Drittel übersteigt. In letzterer Studie wurde eine Kombination von hypofraktionierter Bestrahlung mit einer Carboplatin-Chemotherapie untersucht, die jedoch keinen deutlichen Vorteil gegenüber einer alleinigen Bestrahlungstherapie zeigen konnte. Inwieweit eine Verbesserung der hypofraktionierten Bestrahlungswirkung mit Meloxicam möglich ist, ist anhand dieser nicht plazebo-kontrollierten Anwendungsstudie kaum möglich. Aufgrund der guten Verträglichkeit, der guten klinischen Wirkung und des nun ausgebauten Wissensstandes über die COX-2 Expression bei den unterschiedlichen intranasalen Tumorarten, erscheint aus heutiger Sicht ein Einsatz, insbesondere als adjuvante Therapieform, empfehlenswert. Jedoch sind weitere und intensivere Untersuchungen zum Nutzen dieser Kombinationstherapie wünschenswert. Aufgrund der Erfahrungen und Ergebnisse aus unserer klinischen Anwendungsstudie erscheint der Einsatz einer hypofraktionierten Bestrahlungstherapie mit adjuvanter Meloxicam-Gabe, insbesondere bei älteren Hunden oder weit fortgeschrittenen Tumoren, eine sinnvolle Therapiealternative zu einer kurativen Bestrahlungstherapie darzustellen.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Zahlreiche Studien konnten bereits eine Bedeutung des Enzyms Cyclooxygenase (COX) im Rahmen der Kanzerogenese nachweisen und sind Grundlage für den therapeutischen Einsatz von Nicht-steroidalen Antiphlogistika (NSAIDs) in der Tumorthherapie. Im Rahmen der vorliegenden Studie erfolgte zunächst ein immunhistochemischer COX-2 Nachweis bei 114 kaninen malignen Nasenhöhrentumoren. Dazu wurden jeweils mindestens 20 Proben der fünf häufigsten Tumorarten (Adenokarzinom, Plattenepithelkarzinom, Übergangsepithelkarzinom, Undifferenziertes Karzinom sowie Chondrosarkom) sowie 5 Ästhesioneuroblastom-Proben ausgewählt. Im Allgemeinen konnte eine tumoreigene COX-2 Expression bei 79% der Proben sowie im Speziellen bei 85% der Karzinome (n=87) nachgewiesen werden. Bei Letzteren wiesen insbesondere Plattenepithelkarzinome (100%) und Undifferenzierte Karzinome (96%) eine ausgeprägte COX-2 Expression auf, während Adenokarzinome deutlich seltener (61%) positiv waren. Dies bestätigt die bisher publizierten Ergebnisse auch an größeren Fallzahlen. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass lediglich 41% der untersuchten Chondrosarkome COX-2-exprimierend waren.

Im Rahmen einer klinischen Anwendungsstudie an 25 Hunden mit malignen intranasalen Tumoren (außer Lymphomen) wurde ein immunhistochemischer COX-2 Nachweis sowie eine palliative Therapie mittels hypofraktionierter ⁶⁰Cobalt-Bestrahlung (3 Fraktionen á 8 Gy im wöchentlichen Abstand) und adjuvanter Meloxicam-Gabe (initial 0,2 mg/kg KG, anschließend 0,1 mg/kg KG) durchgeführt. Es erfolgte eine Beurteilung der Therapiewirkung (klinische Symptomatik und Tumorstadium), der progressionsfreien Zeit und der Überlebenszeit einschließlich statistischer Auswertung.

Der Großteil der Patienten wurde aufgrund von Nasenausfluss, Niesen und nasalem Stridor nach median 12 Wochen zur Therapie vorgestellt. Die Patienten litten an Karzinomen (60%), Sarkomen (36%) sowie einem Ästhesioneuroblastom. Eine statistisch signifikant kürzere progressionsfreie Zeit konnte bei Adenokarzinomen (p=0,020) und Chondrosarkomen (p=0,030) festgestellt werden, was sich jedoch nicht in der Überlebenszeit widerspiegelte. Die Tumorstadieneinteilung erfolgte anhand von computertomographischen Befunden nach einem modifizierten TNM-Schema der WHO. Initial befanden sich sieben Tumoren (28%) in Stadium I, zehn

Tumoren (40%) in Stadium III und acht Tumoren (32%) in Stadium IV. Das Tumorstadium erwies sich als statistisch signifikant für die progressionsfreie Zeit (p-Wert $\leq 0,020$) und die Überlebenszeit (p-Wert $\leq 0,010$).

Die mediane progressionsfreie Zeit der Studienpatienten lag bei 147 Tagen (Spanne 0-545 Tage), die mediane Überlebenszeit bei 214 Tagen (Spanne 57-639 Tage). Fünf Patienten waren zum Studienendpunkt nach 639, 461, 470, 401 und 365 Tage weiterhin am Leben und wurden für die Berechnungen zensiert.

Insgesamt 84% der Tumorproben (21/25) erwiesen sich immunhistochemisch als COX-2-positiv. Bei differenzierter Betrachtung zeigten 87% der Karzinome eine COX-2 Expression, was mit den Literaturangaben und dem Ergebnis der immunhistochemischen Studie korreliert, aber auch 78% der Sarkome. Letzteres war insbesondere durch undifferenzierte Sarkom-Subtypen bedingt.

Im Rahmen der Tumorthherapie entwickelten 96% der Patienten eine Verbesserung der klinischen Symptomatik, die bei drei Viertel der Patienten bereits nach median 14,5 Tagen Meloxicam-Monotherapie zu verzeichnen war. Die adjuvante Meloxicam-Gabe erwies sich, bis auf einen Patienten mit initialer Hypoalbuminämie, bei dauerhafter Gabe als gut verträglich. Zudem war eine partielle Remission des Tumolvolumens bereits nach der Meloxicam-Monotherapie bei 5 Patienten mit 12-75% Tumorrückgang zu verzeichnen. Nach Beendigung der Strahlentherapie entwickelten 68% der Hunde innerhalb der ersten drei Monate eine partielle Tumorremission. Nebenwirkungen der Strahlentherapie traten vor allem bei Patienten mit überdurchschnittlichen Überlebenszeiten auf und betrafen überwiegend okulare und dermale Strukturen.

Die Ergebnisse zeigen, dass auch bei weit fortgeschrittenen Tumoren und älteren Patienten zufriedenstellende Ergebnisse mithilfe einer palliativen hypofraktionierten Bestrahlung und adjuvanten Meloxicam-Gabe erzielt werden können. Inwieweit eine NSAID-Gabe bei solchen Patienten eine antitumoröse Wirkung besitzt, sollte weiterführend mittels placebo-kontrollierten Studien untersucht werden.

6 SUMMARY

Several studies have revealed the role of the enzyme cyclooxygenase (COX) in carcinogenesis and serve as justification for the therapeutic use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in anti-cancer therapy. At first, this study investigated the COX-2 expression in 114 canine malignant nasal tumors by immunohistochemistry. At least 20 specimens of the five most frequent nasal tumor types (adenocarcinoma, squamous cell carcinoma, transitional cell carcinoma, undifferentiated carcinoma and chondrosarcoma) as well as 5 specimens of aesthesioneuroblastomas were evaluated. In general, tumor specific COX-2 expression was found in 79% of the specimens and in particular in 85% of the carcinomas (n=87). For the latter, especially squamous cell carcinomas (100%) and undifferentiated carcinomas (96%) showed an extensive COX-2 expression, whereas adenocarcinomas were less frequently positive for this enzyme (61%). These results support the previously published results for carcinomas. Additionally, 41% of chondrosarcomas were COX-2- positive.

Secondly, a clinical investigation with 25 dogs suffering from malignant intranasal tumors (except lymphoma) was performed. These tumors were investigated for COX-2 expression by immunohistochemistry and treated using a palliative hypofractionated ⁶⁰cobalt-radiotherapy (3 fractions of 8 Gy weekly) combined with an adjuvant meloxicam administration (initial dose of 0.2 mg/kg body weight, followed by 0.1 mg/kg). Treatment response (resolution of clinical symptoms and remission of tumor volume), progression-free interval and survival time including statistical analysis were assessed.

Most dogs were presented due to the occurrence of nasal discharge, sneezing and nasal stridor after median 12 weeks. Patients had carcinomas (60%) or sarcomas (36%), except one with an aesthesioneuroblastoma. A statistically significant shorter progression-free interval was seen for adenocarcinomas (p=0.020) and chondrosarcomas (p=0.030), which was not true for the survival time.

The tumor staging was based on computed tomographic results by modified WHO-criteria. Initially seven tumors were in stage I (28%), ten tumors in stage III (40%) and eight tumors in stage IV (32%). The tumor stage was found to be statistically

significant for the progression-free interval (p-value ≤ 0.020) and the survival time (p-value ≤ 0.010).

The median progression-free interval for all dogs was 147 days (range 0-545 days), the median survival time was 214 days (range 57-639 days). Five patients were still alive at the study end point 639, 461, 470, 401 and 365 days after onset of therapy and were censored for the statistical calculations.

In general, 84% tumors (21/25) were COX-2-positive. In particular, 87% of carcinoma showed a COX-2 expression, which correlates well with the published data, but also 78% of sarcoma. The latter was mainly driven by undifferentiated sarcoma.

An improvement of clinical tumor signs was seen for 96% of the patients, which had already been seen for three quarters of the dogs after a median of 14,5 days applying meloxicam-therapy only. The adjuvant long-term use of meloxicam was, except for one dog with hypoalbuminemia, well tolerated. Additionally, partial remission of tumor volume by 12-75% was seen in 5 patients after administration of meloxicam only. Following radiation therapy 68% of the patients developed a partial remission of their nasal tumors. Side effects of the radiation therapy particularly occurred in patients with survival times above-average and mainly affected ocular and dermal structures.

These results show that even late stage tumors and elderly patients can benefit from palliative hypofractionated radiotherapy with adjuvant meloxicam administration. The potential anti-tumor effect of NSAIDs in such patients should be investigated by further placebo-controlled studies.

7 LITERATURVERZEICHNIS

ADAMS, W.M., WITHROW, S.J., WALSHAW, R., et al. (1987):

Radiotherapy of malignant nasal tumors in 67 dogs.

J. Am. Vet. Med. Assoc. 191, 311-315.

ADAMS, W.M., MILLER, P.E., VAIL, D.M., et al. (1997):

An accelerated technique for irradiation of malignant canine nasal and paranasal sinus tumors. Vet. Radiol. Ultrasound 39, 475-481.

ADAMS, W.M., BJORLING, D.E., MC ANUITY, J.E., et al. (2005):

Outcome of accelerated radiotherapy alone or accelerated radiotherapy followed by exenteration of the nasal cavity in dogs with intranasal neoplasia: 53 cases (1990-2002). J. Am. Vet. Med. Assoc. 227, 936-941.

ADAMS, W.M., KLEITER, M.M., THRALL, D.E., et al. (2009):

Prognostic significance of tumor histology and computed tomographic staging for radiation treatment response of canine nasal tumors.

Vet. Radiol. Ultrasound 50, 330-335.

ANDERSON, G.M., LANE, I., FISCHER, J., et al. (1999):

Hypercalcemia and parathyroid hormone-related protein in a dog with undifferentiated nasal carcinoma. Can. Vet. J. 40, 341-342.

ASHBAUGH, E., MC KIERNAN, B., MILLER, C., et al. (2009):

Hydropulsion to biopsy and debulk nasal tumors. Abstract VCS Annual Congress, Seattle.

AUPPERLE, H., MARQUART, F., ELLENBERGER, C., et al. (2011):

Diagnose von Nasentumoren bei Hund und Katze. Prakt. Tierarzt 92, 102-114.

AVNER, A., DOBSON, J.M., SALES, J.I., et al. (2008):

Retrospective review of 50 canine nasal tumours evaluated by low-field magnetic resonance imaging. J. Small Anim. Pract. 49, 233-239.

BAEK, S.J., MC ENTREE, M.F., LEGENDRE, A.M. (2009):

Review Paper: Cancer chemopreventive compounds and canine cancer.

Vet. Pathol. 46, 576-588.

BEAM, S.L., RASSNICK, K.M., MOORE, A.S., et al. (2003):

An immunohistochemical study of cyclooxygenase-2 expression in various feline neoplasms. Vet. Pathol. 40, 496-500.

BELSHAW, Z., DUNNING, M., BREARLEY M., et al. (2009):

COX-2 expression and its correlation with survival in canine nasal carcinomas.
Abstract VCS Conference, Austin.

BISSETT, S.A., DROBATZ, K.J., MC KNIGHT, A., et al. (2007):

Prevalence, clinical features, and causes of epistaxis in dogs: 176 cases (1996-2001). J. Am. Vet. Med. Assoc. 231, 1843-1850.

BORIA, P.A., MURRY, D.J., BENNETT, P.F., et al. (2004):

Evaluation of cisplatin combined with piroxicam for the treatment of oral malignant melanoma and oral squamous cell carcinoma in dogs.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 224, 388-394.

BORIA, P.A., GLICKMAN, N.W., SCHMIDT, B.R., et al. (2005):

Carboplatin and piroxicam therapy in 31 dogs with transitional cell carcinoma of the urinary bladder. Vet. Comp. Onc. 3, 73-78.

BORZACCHIELLO, G., PACIELLO, O., PAPPARELLA, S. (2004):

Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in canine nasal carcinomas.
J. Comp. Path. 131, 70-76.

BRADLEY, P.A., HARVEY, C.E. (1973):

Intra-nasal tumours in the dog: an evaluation of prognosis.
J. Small Anim. Pract. 14, 459-467.

BUKOWSKI, J.A., WARTENBERG, D., GOLDSCHMIDT, M. (1998):

Environmental causes for sinonasal cancers in pet dogs, and their usefulness as sentinels of indoor cancer risk. J. Toxicol. Environ. Health A. 54, 579-591.

CHING, S.V., MC CHESNEY GILLETTE, S., POWERS, B.E., et al. (1990):

Radiation-induced ocular injury in the dog: a histological study.
Int. J. Radiation Oncology Biology Physics 19, 321-328.

CLERCX, C., WALLON, J., GILBERT, S., et al. (1996):

Imprint and brush cytology in the diagnosis of canine intranasal tumours.
J. Small Anim. Pract. 37, 423-427.

CLEVERS, H. (2004):

At the crossroads of inflammation and cancer. Cell 118, 671-674.

CODNER, E.C., LURUS, A.G., MILLER, J.B., et al. (1993):

Comparison of computed tomography with radiography as a noninvasive diagnostic technique for chronic nasal disease in dogs.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 202, 1106-1110.

CONFER, A.W., DE PAOLI, A. (1978):

Primary neoplasms of the nasal cavity, paranasal sinuses and nasopharynx in the dog. A report of 16 cases from the files of the AFIP. Vet. Pathol. 15, 18-30.

CORREA, S.S., MAULDIN, G.N., MAULDIN, G.E., et al. (2003):

Efficacy of cobalt-60 radiation therapy for the treatment of nasal cavity nonkeratinizing squamous cell carcinoma in the dog.

J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 39, 86-89.

COUTO, C.G., BOUDRIEU, R.J., ZANJANI, E.D. (1989):

Tumor-associated erythrocytosis in a dog with nasal fibrosarcoma. J. Vet. Intern. Med. 3, 183-185.

CUI, D., XIE, F., ZHANG, X. (2008)

Expression and clinical significance of cyclooxygenase-2 in nasal and paranasal sinus carcinoma.

J. Clin. Otorhinolaryngology, Head, and Neck Surgery 22, 629-631.

CUZIK, J., OTTO, F., BARON, J.A., et al. (2009):

Aspirin and non-steroidal anti-inflammatory drugs for cancer prevention: an international consensus statement. Lancet Oncol. 10, 501-507.

DE MELLO SOUZA, C.H., et al. (2004):

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and cancer: Chemoprevention and treatment. Vet. Cancer Soc. News 8-10.

DE MELLO SOUZA, C.H., TOLEDO-PIZA, E., AMORIN, R., et al. (2009):

Inflammatory mammary carcinoma in 12 dogs: clinical features, cyclooxygenase-2 expression, and response to piroxicam treatment.

Can. Vet. J. 50, 506-510.

DE VOS, J.P., BURM, A.G.D., FOCKER, A.P., et al. (2005):

Piroxicam and carboplatin as a combination treatment of canine oral non-tonsillar squamous cell carcinoma : a pilot study and a literature review of a canine model of human head and neck squamous cell carcinoma.

Vet. Comp. Onc. 3, 16-24.

DHAWAN, D., BORGATTI JEFFREYS, A., ZHENG, R., et al. (2008):

Cyclooxygenase-2 dependent and independent antitumor effects induced by celecoxib in urinary bladder cells. Mol. Cancer Ther. 7, 897-904.

DIAS PEREIRA, P., LOPES, C.C., MATOS, A.J.F., et al. (2009):

COX-2 expression in canine normal and neoplastic mammary gland.

J. Comp. Path. 140, 247-253.

DIXON, W.J. (1993):

BMDP Statistical Software Manual, Volume 1 and 2. University of California Press, Berkeley, Los Angeles, London.

DORE, M., LANTHIER, I., SIROIS, J. (2003):

Cyclooxygenase-2 expression in canine mammary tumors.

Vet. Pathol. 40, 207-212.

DORE, M. (2011):

Cyclooxygenase-2 expression in animal cancers. Vet. Pathol. 48, 254-265.

DREES, R., FORREST, L.J., CHAPPELL, R. (2009):

Comparison of computed tomography and magnetic resonance imaging for the evaluation of canine intranasal neoplasia. J. Small Anim. Pract. 50, 334-340.

DUNGWORTH, D.L., HAUSER, B., HAHN, F.F., et al. (1999):

Histological classification of the tumors of the respiratory system of domestic animals. Schulmann, F.Y. (Hrsg.), WHO international histological classification of tumors of domestic animals. Armed Forces Institute of Pathology, Washington D.C.

ECKSTEIN, C., ROHRER BLEY, C., KASER-HOTZ, B. (2006):

Sauerstoffmangel im Tumorgewebe – seine Bedeutung für den Kliniker in Bezug auf Therapie und Prognose. Kleintierpraxis 51, 250-255.

EVANS, S.M., GOLDSCHMIDT, M., MC KEE, L.J., et al. (1989):

Prognostic factors and survival after radiotherapy for intranasal neoplasms in dogs: 70 cases (1974-1985). J. Am. Vet. Med. Assoc. 194, 1460-1463.

FLORY, A.B., LE BLANC, A.K. (2005):

The role of cyclooxygenase in carcinogenesis and anticancer therapy.

Comp. Vet. 3, 616-626.

FOSSLIE, E. (2000):

Biochemistry of cyclooxygenase (COX)-2 inhibitors and molecular pathology of COX-2 in neoplasia. Clin. Lab. Science 37, 431-502.

FURUTA, Y., HUNTER, N., BARKLEY, T., et al. (1988):

Increase in radioresponse of murine tumors by treatment with indomethacin. Cancer Res. 48, 3008-3013.

GAFFNEY, D.K., HOLDEN, J., DAVIS, M., et al. (2001):

Elevated cyclooxygenase-2 expression correlates with diminished survival in carcinoma of the cervix treated with radiotherapy.

Int. J. Radiation Oncology Biology Physics 49, 1213-1217.

GIEGER, T., RASSNICK, K., SIEGEL, S., et al. (2008):

Palliation of clinical signs in 48 dogs with nasal carcinomas treated with coarse-fraction radiation therapy. J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 44, 116-123.

GOLDMAN, A.P., WILLIAMS, C.S., SHENG, H., et al. (1998):

Meloxicam inhibits the growth of colorectal cancer cells.

Carcinogenesis 19, 2195-2199.

GREENBERG, C.B., SNYDER, P.W., KHAN, K.N., et al. (2003):

Cyclooxygenase-2 expression in naturally occurring canine osteosarcoma:

A preliminary report. Vet. Cancer Soc. Proc. 11.

GRIMES, K.R., WARREN, G.W., FANG, F., et al. (2006):

Cyclooxygenase-2 inhibitor, nimesulide, improves radiation treatment against non-small cell lung cancer both in vitro and in vivo. Oncol. Rep. 16, 771-776.

HAHN, K.A., KNAPP, D.W., RICHARDSON, R.C., et al. (1992):

Clinical response of nasal adenocarcinoma to cisplatin chemotherapy in 11 dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 200, 355-357.

HARVEY, C.E., BIERY, D.N., MORELLO, J., et al. (1979):

Chronic nasal disease in the dog: its radiographic diagnosis.

Vet. Radiol. 20, 91-98.

HAYES, H.M., WILSON, G.P., FRAUMENI, H.F. (1982):

Carcinoma of the nasal cavity and paranasal sinuses in dogs: descriptive epidemiology. Cornell Vet. 72, 168-179.

HAYES, A., SCASE, T., MILLER, J., et al. (2006):

COX-1 and COX-2 expression in feline oral squamous cell carcinoma.

J. Comp. Path. 135, 93-99.

HAYES, A. (2007):

Cancer, cyclo-oxygenase and nonsteroidal anti-inflammatory drugs – can we combine all three? Vet. Comp. Onc. 5, 1-13.

HELLER, D.A., CLIFFORD, C.A., GOLDSCHMIDT, M.H., et al. (2005a):

Assessment of cyclooxygenase-2 expression in canine hemangiosarcoma, histiocytic sarcoma, and mast cell tumor. Vet. Pathol. 42, 350-353.

HELLER, D.A., CLIFFORD, C.A., GOLDSCHMIDT, M.H., et al. (2005b):

Cyclooxygenase-2 expression is associated with histologic tumor type in canine mammary carcinoma. *Vet. Pathol.* 42, 776-780.

HELLER, D.A., FAN, T.M., DE LORIMIER, L.P., et al. (2007):

In vitro cyclooxygenase-2 protein expression and enzymatic activity in neoplastic cells. *J. Vet. Intern. Med.* 21, 1048-1055.

HENRY, C.J., BREWER, W.G., TYLER, J.W., et al. (1998):

Survival in dogs with nasal adenocarcinoma: 64 cases (1981-1995).
J. Vet. Intern. Med. 12, 436-439.

HENRY, C.J., MC CAW, D.L., TURNQUIST, S.E., et al. (2003):

Clinical evaluation of mitoxantrone and piroxicam in a canine model of human invasive urinary bladder carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 9, 906-911.

HERRMANN, T., BAUMANN, M., DÖRR, W. (Hrsg.) (2006):

Klinische Strahlenbiologie. Elsevier GmbH, München 3-137.

HOLMILA, R., CYR, D., LUCE, D., et al. (2008):

COX-2 and p53 in human sinonasal cancer: COX-2 expression is associated with adenocarcinoma histology and wood-dust exposure.
Int. J. Cancer. 122, 2154-2159.

HUNLEY, D.W., MAULDIN, G.N., SHIOMITSU, K., et al. (2010):

Clinical outcome in dogs with nasal tumors treated with intensity-modulated radiation therapy. *Can. Vet. J.* 51, 293-300.

IMPELLIZERI, J.A., ESPLIN, D.G. (2007):

Expression of cyclooxygenase-2 in canine nasal carcinomas.
Vet. J. 176, 408-410.

JAMIESON, V.E., DAVIDSON, M.G., NASISSE, M.P., et al. (1991):

Ocular complications following Cobalt 60 radiotherapy of neoplasms in the canine head region. *J. Am. An. Hosp. Assoc.* 27, 51-55.

JONES, C.J., BUDSBERG, S.C. (2000):

Physiologic characteristics and clinical importance of the cyclooxygenase isoforms in dogs and cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 217, 721-729.

JONES, C.J., STREPPA, H.K., HARMON, B.G., et al. (2002):

In vivo effects of meloxicam and aspirin on blood, gastric mucosal, and synovial fluid prostanoid synthesis in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 63, 1527-1531.

KANDEL, B. (2004):

Strahlentherapie in der Kleintierpraxis. Prakt. Tierarzt 85, 476-481.

KARGMAN, S.I., O`NEILL, G.P., VICKERS, P.J., et al. (1995):

Expression of prostaglandin G/H Synthase-1 and -2 protein in human colon cancer. Cancer Res. 55, 2556-2559.

KASER-HOTZ, B., FODOR, G., CORDT-RIEHLE, I., et al. (1994):

Radiotherapie in der Kleintiermedizin: Grundlagen, Indikationen und Bedeutung. Schweiz Arch. Tierheilk. 136, 319-328.

KESSLER, M. (Hrsg.) (2005):

Kleintieronkologie. Diagnose und Therapie von Tumorerkrankungen bei Hunden und Katzen. Parey-Buchverlag, Berlin 329-339.

KHAN, K.N.M., KNAPP, D.W., DENICOLA, D.B., et al. (2000):

Expression of cyclooxygenase-2 in transitional cell carcinoma of the urinary bladder in dogs. Am. J. Vet. Res. 61, 478-481.

KHAN, K.N.M., STANFIELD, K.M., TRAJKOVIC, D., et al. (2001):

Expression of cyclooxygenase-2 in canine renal cell carcinoma. Vet. Pathol. 38, 116-119.

KINZEL, S., HEIN, S., STOPINSKI, T., et al. (2003):

Die hypofraktionierte Strahlentherapie zur Behandlung des malignen Melanoms und des Plattenepithelkarzinoms von Hund und Katze. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 116, 134-138.

KLEITER, M., MALARKEY, D.E., RUSLANDER, D.E., et al. (2004):

Expression of cyclooxygenase-2 in canine epithelial nasal tumors. Vet. Radiol. Ultrasound 45, 255-260.

KLUETER, S., KRASTEL, D., LUDEWIG, E., et al. (2006):

High-dose-rate brachytherapy for intranasal tumours in dogs: results of a pilot study. Vet. Comp. Onc. 4, 218-231.

KNAPP, D.W., RICHARDSON, R.C, BONNEY, P.L., et al. (1988):

Cisplatin therapy in 41 dogs with malignant tumors. J. Vet. Intern. Med. 2, 41-46.

KNAPP, D.W., RICHARDSON, R.C., BOTTOMS, G.D., et al. (1992):

Phase I trial of piroxicam in 62 dogs bearing naturally occurring tumors. Cancer Chemother. Pharmacol. 29, 214-218.

KNAPP, D.W., RICHARDSON, R.C., CHAN, T.C., et al. (1994):

Piroxicam therapy in 34 dogs with transitional cell carcinoma of the urinary bladder. J. Vet. Intern. Med. 8, 273-278.

KNAPP, D.W., GLICKMAN, N.W., WIDMER, W.R., et al. (2000):

Cisplatin versus Cisplatin combined with piroxicam in a canine model of human invasive urinary bladder cancer.

Cancer Chemother. Pharmacol. 46, 221-226.

KNAPP, D.W., HENRY, C.J., WIDMER, W.R., et al. (2007):

Phase III clinical trial of Cisplatin vs Firocoxib vs Cisplatin/Firocoxib in dogs with transitional cell carcinoma of the urinary bladder.

Abstract VCS Conference, Fort Lauderdale.

KNOBLICH, J. (2006):

Tumorstammzellen als Schlüssel zur Krebstherapie. Presseinformation des Instituts für Molekulare Biotechnologie GmbH.

KNOTEK, Z., FICHTEL, T., KOHOUT, P., et al. (2001):

Diseases of nasal cavity in the dog. Aetiology, symptomatology, diagnostics. Acta Vet. Brno 70, 73-82.

KNOTTENBELT, C.M., SIMPSON, J.W., TASKER, S., et al. (2000):

Preliminary clinical observations on the use of piroxicam in the management of rectal tubulopapillary polyps. J. Small Anim. Pract. 41, 393-397.

KNOTTENBELT, C., CHAMBERS, G., GAULT, E., et al. (2006):

The in vitro effects of piroxicam and meloxicam on canine cell lines.

J. Small Anim. Pract. 47, 14-20.

KNOTTENBELT, C., MELLOR, D., NIXON, C., et al. (2006):

Cohort study of COX-1 and COX-2 expression in canine rectal and bladder tumours. J. Small Anim. Pract. 47, 196-200.

KONDO, Y., MATSUNAGA, S., MOCHIZUKI, M., et al. (2008):

Prognosis of canine patients with nasal tumors according to modified clinical stages based on computed tomography: a retrospective study.

J. Vet. Med. Sci. 70, 207-212.

LA DUE, T.A., DODGE, R., PAGE, R.L., et al. (1999):

Factors influencing survival after radiotherapy of nasal tumors in 130 dogs.

Vet. Radiol. Ultrasound 40, 312-317.

LA DUE, T., KLEIN, M.K. (2001):

Toxicity criteria of the veterinary radiation therapy oncology group. Vet. Radiol. Ultrasound 42, 475-476.

LAING, E.J., BINNINGTON, A.G. (1988):

Surgical therapy of canine nasal tumors: a retrospective study (1982-1986). Can. Vet. J. 1988; 29: 809-813.

LANA, S.E., DERNELL, W.S., LAFFERTY, M.H., et al. (2004):

Use of radiation and a slow-release cisplatin formulation for treatment of canine nasal tumors. Vet. Radiol. Ultrasound 45, 577-581.

LANGOVA, V., MUTSAERS, A.J., PHILLIPS, B., et al. (2004):

Treatment of eight dogs with nasal tumours with alternating doses of doxorubicin and carboplatin in conjunction with oral piroxicam. Austr. Vet. J. 82, 76-80.

LAVALLE, G.E., BERTAGNOLLI, A.C., TAVARES, W.L., et al. (2009):

COX-2 expression in canine mammary carcinomas: correlation with angiogenesis and overall survival. Vet. Pathol. 46, 1275-1280.

LEAHY, K.M., KOKI, A.T., MASFERRER, J.L. (2000):

Role of cyclooxygenases in angiogenesis. Current Med. Chem. 7, 1163-1170.

LEFEBVRE, J., KUEHN, N.F., WORTINGER, A. (2005):

Computed tomography as an aid in the diagnosis of chronic disease in dogs. J. Small Anim. Pract. 46, 280-285.

LEONG, A.S. (2004):

Quantitation in immunohistology: fact or fiction? A discussion of variables that influence results. Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol. 12, 1-7.

L'EPLATTENIER, H.F., LAI, C.L., VAN DEN HAM, R., et al. (2007):

Regulation of COX-2 expression in canine prostate carcinoma: increased COX-2 expression is not related to inflammation. J. Vet. Intern. Med. 21, 776-782.

LIEBLER, S., HELMKE, B., PLINKERT, P. (2006):

Das olfaktorische Neuroblastom – Eine Falldarstellung. Meeting Abstract, 77. Jahresversammlung der Deutschen Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohren Heilkunde, Kopf- und Hals-Chirurgie, e.V., Mannheim.

LIU, W., CHEN, Y., WANG, W., et al. (2003):

Combination of radiation and celebrex (celecoxib) reduce mammary and lung tumor growth. Am. J. Clin. Oncol. 26, 103-109.

LÖFFLER, G. (Hrsg.) (2001):

Basiswissen Biochemie mit Pathobiochemie.

Springer Verlag, Berlin 57-58, 176-177.

LÖSCHER, W., UNGEMACH, F.R., KROKER, R. (Hrsg.) (2003):

Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren.

Blackwell Verlag GmbH, Berlin 51-53, 323-327.

MAC EWEN, E.G., WITHROW, S.J., PATNAIK, A.K. (1977):

Nasal tumors in the dog: retrospective evaluation of diagnosis, prognosis, and treatment. J. Am. Vet. Med. Assoc. 170, 45-48.

MADEWELL, B.R., PRIESTER, W.A., GILLETT, E.L., et al. (1976):

Neoplasms of the nasal passages and paranasal sinuses in domesticated animals as reported in 13 veterinary colleges. Am. J. Vet. Res. 37, 851-856.

MAGGS, D.J., MILLER, P.E., OFRI, R. (Hrsg.) (2008):

Slatter`s Fundamentals of Veterinary Ophthalmology. Saunders Elsevier, St. Louis.

MALINOWSKI, C. (2006):

Canine and feline nasal neoplasia. Clin. Tech. Small Anim. Pract. 21, 89-94.

MARUO, T., SHIDA, T., FUKUYAMA, Y., et al. (2010):

Retrospective study of canine nasal tumor treated with hypofractionated radiotherapy. Advance Publication, J. Vet. Med. Sci..

MC ENTEE, M.C., PAGE, R.L., HEIDNER, G.L., et al. (1991):

A retrospective study of 27 dogs with intranasal neoplasms treated with cobalt radiation. Vet. Radiol. 23, 135-139.

MC ENTEE, M.F., CATES, J.M., NEILSEN, N. (2002):

Cyclooxygenase-2 expression in spontaneous intestinal neoplasia of domestic dogs. Vet. Pathol. 39, 428-436.

MELER, E., DUNN, M., LECUYER, M. (2008):

A retrospective study of canine persistent nasal disease: 80 cases (1998-2003). Can. Vet. J. 49, 71-76.

MELLANBY, R.J., STEVENSON, R.K., HERRTAGE, M.E., et al. (2002):

Long-term outcome of 56 dogs with nasal tumours treated with four doses of radiation at intervals of seven days. Veterinary Record 151, 253-257.

MERTENS, D. (2002):

Die Computertomographie zur Diagnostik intranasaler Neoplasien.
Kleintiermedizin 10, 189-195.

MIHALJEVIC, M., KRAMER, M., GOMERCIC, H. (Hrsg.) (2009):

CT- und MRT-Atlas. Transversalanatomie des Hundes. Parey Verlag, Stuttgart.

MILAS, L., YUICHI, F., HUNTER, N., et al. (1990):

Dependence of indomethacin-induced potentiation of murine tumor radioresponse on tumor host immunocompetence. Cancer Res. 50, 4473-4477.

MILAS, L., KISHI, K., HUNTER, N., et al. (1999):

Enhancement of tumor response to γ -radiation by an inhibitor of cyclooxygenase-2 enzyme. J. Nat. Cancer Inst. 91, 1501-1504.

MILLANTA, F., CITI, S., DELLA SANTA, D., et al. (2006):

COX-2 expression in canine and feline invasive mammary carcinomas: correlation with clinicopathological features and prognostic molecular markers. Breast Cancer Res. Treat. 98, 115-120.

MOHAMMED, S.I., COFFMAN, K., GLICKMAN, N.W., et al. (2001):

Prostaglandin E2 concentrations in naturally occurring canine cancer. Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids 64, 1-4.

MOHAMMED, S.I., BENNETT, P.F., CRAIG, B.A., et al. (2002):

Effects of the cyclooxygenase inhibitor, piroxicam, on tumor response, apoptosis, and angiogenesis in a canine model of human invasive urinary bladder cancer. Cancer Res. 62, 356-358.

MOHAMMED, S.I., CRAIG, B.A., MUTSAERS, A.J., et al. (2003):

Effects of the cyclooxygenase inhibitor, piroxicam, in combination with chemotherapy on tumor response, apoptosis, and angiogenesis in a canine model of human invasive urinary bladder cancer.

Molec. Cancer Ther. 2, 183-188.

MOHAMMED, S.I., KHAN, K.N., SELLERS, R.S., et al. (2004):

Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in naturally occurring canine cancer. Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids 70, 479-483.

MOHAMMED, S.I., DHAWAN, D., ABRAHAM, S., et al. (2006):

Cyclooxygenase inhibitors in urinary bladder cancer: *in vitro* and *in vivo* effects. Mol. Cancer Ther. 5, 329-336.

MOREAU, M., DAMINET, S., MARTEL-PELLETIER, J., et al. (2005):

Superiority of the gastrointestinal safety profile of licofelone over rofecoxib, a COX-2 selective inhibitor, in dogs. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 28, 81-86.

MORRIS, J.S., DUNN, K.J., DOBSON, J.M., et al. (1994):

Effects of radiotherapy alone and surgery and radiotherapy on survival of dogs with nasal tumours. *J. Small Anim. Pract.* 35, 567-573.

MULLINS, M.N., LANA, S.E., DERNELL, W.S., et al. (2004):

Cyclooxygenase-2 expression in canine appendicular osteosarcomas. *J. Vet. Intern. Med.* 18, 859-865.

MUTSAERS, A.J., GLICKMAN, N.W., DE NICOLA, D.B., et al. (2002):

Evaluation of treatment with doxorubicin and piroxicam or doxorubicin alone for multicentric lymphoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 220, 1813-1817.

MUTSAERS, A.J., MOHAMMED, S.I., DE NICOLA, D.B., et al. (2005):

Pretreatment tumor prostaglandin E2 concentration and cyclooxygenase-2 expression are not associated with the response of canine naturally occurring invasive urinary bladder cancer to cyclooxygenase inhibitor therapy. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 72, 181-186.

NADEAU, M.E., KITCHELL, B.E., ROOKS, R.L., et al. (2004):

Cobalt radiation with or without low-dose cisplatin for treatment of canine nasosinus carcinomas. *Vet. Radiol. Ultrasound* 45, 362-367.

NARUSE, T., NISHIDA, Y., HOSONO, K., et al. (2006):

Meloxicam inhibits osteosarcoma growth, invasiveness and metastasis by COX-2-dependent and independent routes. *Carcinogenesis* 27, 584-592.

NEWMAN, S.J., MRKONJICH, L. (2006):

Cyclooxygenase-2 expression in feline pancreatic adenocarcinomas. *J. Vet. Diagn. Invest.* 18, 590-593.

NORTHRUP, N.C., ETUE, S.M., RUSLANDER, D.M., et al. (2001):

Retrospective study of orthovoltage radiation therapy for nasal tumors in 42 dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 15, 183-189.

OBERHÄNSLI, F.B. (2003):

Eine retrospektive Studie über die Bestrahlung von Nasenhöhlektumoren bei Hunden. Inaugural-Dissertation, Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Zürich.

OSAKI, T., TAKAGI, S., HOSHINO, Y., et al. (2009):

Efficacy of antivasular photodynamic therapy using benzoporphyrin derivate monoacid ring A (BPD-MA) in 14 dogs with oral and nasal tumors.
J. Vet. Med. Sci. 71, 125-132.

OWEN, L.N. (1980):

TNM Classification of tumors in domestic animals. Bull WHO. Genf.

PARK, R.D., BECK, E.R., LE COUTEUR, R.A. (1992):

Comparison of computed tomography and radiography for detecting changes induced by malignant nasal neoplasia in dogs.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 201, 1720-1724.

PATNAIK, A.K., LIEBERMAN, P.H., ERLANDSON, R.A., et al. (1984):

Canine sinonasal skeletal neoplasms: chondrosarcomas and osteosarcomas.
Vet. Pathol. 21, 475-482.

PATNAIK, A.K. (1989):

Canine sinonasal neoplasms: clinicopathological study of 285 cases.
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 25, 103-114.

PESTILI DE ALMEIDA, E.M., PICHE, C., SIROIS, J., et al. (2001):

Expression of cyclooxygenase-2 in naturally occurring squamous cell carcinomas in dogs. J. Histochem. Cytochem. 49, 867-875.

PETERSEN, C., PETERSEN, S., MILAS, L., et al. (2000):

Enhancement of intrinsic tumor cell radiosensitivity induced by a selective cyclooxygenase-2 inhibitor. Clin. Cancer Res. 6, 2513-2520.

POIRIER, V.J., FORREST, L.J., ADAMS, W.M., et al. (2004):

Piroxicam, mitoxantrone, and coarse fraction radiotherapy for the treatment of transitional cell carcinoma of the bladder in 10 dogs: a pilot study.
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 40, 131-136.

PRONOVOST, N., SUTER, M.M., MUELLER, E., et al. (2004):

Expression and regulation of cyclooxygenase-2 in normal and neoplastic canine keratinocytes. Vet. Comp. Onc. 2, 222-233.

PSCHYREMBEL, W. (Hrsg.) (1998):

Klinisches Wörterbuch. de Gruyter, Berlin 100, 438, 747, 1514.

PYO, H., CHOY, H., AMORINO, G.P., et al. (2001):

A selective cyclooxygenase-2 inhibitor, NS-398, enhances the effect of radiation *in vitro* and *in vivo* preferentially on the cells that express cyclooxygenase-2. Clin. Cancer Res. 7, 2998-3005.

QUEIROGA, F.L., ALVES, A., PIRES, I., et al. (2007):

Expression of COX-1 and COX-2 in canine mammary tumours. J. Comp. Pathol. 136, 177-185.

QUEIROGA, F.L., PIRES, I., PARENTE, M., et al. (2009):

Cyclooxygenase-2 overexpression correlates with vascular endothelial growth factor expression and tumour angiogenesis in canine mammary cancer. Abstract at ESVONC Annual Congress, Visegrád, Hungary.

RAJU, U., NAKATA, E., YANG, P., et al. (2002):

In vitro enhancement of tumor cell radiosensitivity by a selective inhibitor of cyclooxygenase-2 enzyme: mechanistic considerations. Int. J. Radiation Oncology Biology Physics 54, 886-894.

RASSNICK, K.M., GOLDKAMP, C.E., ERB, H.N., et al. (2006):

Evaluation of factors associated with survival in dogs with untreated nasal carcinomas: 139 cases (1993-2003). J. Am. Vet. Med. Assoc. 229, 401-406.

REIF, J.S., BRUNS, C., LOWER, K.S. (1998):

Cancer of the nasal cavity and paranasal sinuses and exposure to environmental tobacco smoke in pet dogs. Am. J. Epidemiol. 147, 488-492.

ROBERTS, S.M., LAVACH, J.D., SEVERIN, G.A., et al. (1987):

Ophthalmic complications following megavoltage irradiation of the nasal and paranasal cavities in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 190, 43-47.

ROESSNER, A., PFEIFER, U., MÜLLER-HERMELINK, H.K. (Hrsg.) (2004):

Allgemeine Pathologie. Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag, München 8-9, 32.

ROGERS, K.S., WALKER, M.A., HELMAN, R.G. (1996):

Squamous cell carcinoma of the canine nasal cavity and frontal sinus: eight cases. J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 32, 103-110.

RUSSO, M., LAMB, C.R., JAKOVLJEVIC, S. (2000):

Distinguishing rhinitis and nasal neoplasia by radiography. Vet. Radiol. Ultrasound 41, 118-124.

SANCHEZ-ALCAZAR, J.A., BRADBURY, D.A., PANG, L., et al. (2003):

Cyclooxygenase (COX) inhibitors induce apoptosis in non-small cell lung cancer through cyclooxygenase independent pathways. Lung Cancer 40, 33-44.

SANTOS, A., OLIVEIRA, J., LOPES, C., et al. (2009):

Immunohistochemical expression of VEGF in Canine Mammary Tumours. Abstract ESVONC Annual Congress, Visegrád, Hungary.

SAUNDERS, J.H., VAN BREE, H., GIELEN, I., et al. (2003):

Diagnostic value of computed tomography in dogs with chronic nasal disease. Vet. Radiol. Ultrasound 44, 409-413.

SCHMIDT, B.R., GLICKMAN, N.W., DE NICOLA, D.B., et al. (2001):

Evaluation of piroxicam for the treatment of oral squamous cell carcinoma in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 218, 1783-1786.

SCHREY, C.F. (Hrsg.) (2005):

Leitsymptome und Leitbefunde bei Hund und Katze. Schattauer, Stuttgart.

SCHWIETZER, A., KANDEL, B., KESSLER, M. (2005):

Palliative ⁶⁰Cobalt-Bestrahlung bei Hunden mit weit fortgeschrittenen Tumoren der Nasen- und Nasennebenhöhlen. Kleintierpraxis 50, 145-151.

SCHWIETZER, A. (2008):

Palliative Therapie intranasaler, maligner Tumoren des Hundes mit hypofraktionierter Cobalt⁶⁰-Bestrahlung und adjuvanter systemischer Chemotherapie. Inaugural-Dissertation, Fachbereich Veterinärmedizin, JLU Gießen.

SCRIVANI, P.V. (2009):

Sinonasal computed tomography in dogs and cats. IVIS Reviews in Veterinary Medicine, R0109.0709.

SEEGENSCHMIEDT, M.H. (2004):

Acute and chronic side effects of local radiotherapy. MMW. Fortschr. Med. 146, 29-32.

SMITH, M.O., TURREL, J.M., BAILEY, C.S., et al. (1989):

Neurologic abnormalities as the predominant signs of neoplasia of the nasal cavity in dogs and cats: seven cases (1973-1986). J. Am. Vet. Med. Assoc. 195, 242-245.

SMITH, W.L., GARAVITO, R.M., DE WITT, D.L. (1996):

Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and -2. J. Biol. Chem. 271, 33157-33160.

SOO, R., PUTTI, T., TAO, Q. (2005):

Overexpression of cyclooxygenase-2 in nasopharyngeal carcinoma and association with epidermal growth factor receptor expression.

Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. 131, 147-152.

SORENMO, K.U., GOLDSCHMIDT, M.H., SHOFER, F.S., et al. (2004):

Evaluation of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 expression and the effect of cyclooxygenase inhibitors in canine prostatic carcinoma.

Vet. Comp. Onc. 2, 13-23.

SPUGNINI, E.P., PORRELLO, A., CITRO, G., et al. (2005):

COX-2 overexpression in canine tumors: potential therapeutic targets in oncology. Histol. Histopathol. 20, 1309-1312.

STANCLIFT, R.M., GILSON, S.D. (2008):

Evaluation of neoadjuvant prednisone administration and surgical excision in treatment of cutaneous mast cell tumors in dogs.

J. Am. Vet. Med. Assoc. 232, 53-62.

SUBBARAMAIAH, K., DANNENBERG, A.J. (2003):

Cyclooxygenase 2: a molecular target for cancer prevention and treatment.

Trends in Pharm. Sciences 24, 96-102.

TACKE, S. (Hrsg.) (2005):

Schmerzbehandlung in der Kleintiermedizin. Enke Verlag, Stuttgart.

TAKETO, M.M. (1998a):

Cyclooxygenase-2 inhibitors in tumorigenesis (part I).

J. Nat. Cancer Inst. 90, 1529-1536.

TAKETO, M.M. (1998b):

Cyclooxygenase-2 inhibitors in tumorigenesis (part II).

J. Nat. Cancer Inst. 90, 1609-1620.

THEON, A.P., MADEWELL, B.R., HARB, M.F., et al. (1993):

Megavoltage irradiation of neoplasms of the nasal and paranasal cavities in 77 dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 202, 1469-1475.

THOMPSON, L.D.R. (2009):

Olfactory Neuroblastoma. Head Neck Pathol. 3, 252-259.

THRALL, D.E., HEIDNER, G.L., NOVOTNEY, C.A., et al. (1993):

Failure patterns following cobalt irradiation in dogs with nasal carcinoma. Vet. Radiol. Ultrasound 34, 126-133.

THUN, M.J., HENLEY, S.J., GANSLER, T. (2004):

Inflammation and cancer: an epidemiological perspective.
Novartis Found. Symp. 256, 6-28.

TREMBLAY, C., DORE, M., BOCHSLER, P.N., et al. (1999):

Induction of prostaglandin G/H synthase-2 in a canine model of spontaneous prostatic adenocarcinoma. J. Natl. Cancer Inst. 91, 1398-1403.

VON BOMHARD, W. (2010):

Persönliche Mitteilung, September 2010.

WILEY, J.L., ROOK, K.A., CLIFFORD, C.A., et al. (2010):

Efficacy of doxorubicin-based chemotherapy for non-resectable canine subcutaneous haemangiosarcoma. Vet. Comp. Onc. 8, 221-233.

WILLARD, M.D., RADLINSKY, M.A. (1999):

Endoscopic examination of the choanae in dogs and cats: 118 cases (1988-1998). J. Am. Vet. Med. Assoc. 215, 1301-1305.

WILLIAMS, C.S., MANN, M., DUBOIS, R.N. (1999):

The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development. Oncogene 18, 7908-7916.

WILSON, R.B., BRONSTAD, D.C. (1983):

Hypercalcemia associated with nasal adenocarcinoma in a dog.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 182, 1246-1247.

WILSON, J.E., CHANDRASEKHARAN, N.V., WESTOVER, K.D., et al. (2004):

Determination of expression of cyclooxygenase-1 and -2 isozymes in canine tissues and their differential sensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Am. J. Vet. Res. 65, 810-818.

WITHROW, S.J., VAIL, D.M. (Hrsg.) (2007):

Small Animal Clinical Oncology. Saunders Elsevier 193-210, 525-535.

WOLFESBERGER, B., WALTER, I., HOELZL, C., et al. (2006):

Antineoplastic effect of the cyclooxygenase inhibitor meloxicam on canine osteosarcoma cells. Res. Vet. Sci. 80, 308-316.

YAMAUCHI, T., WATANABE, M., KUBOTA, T., et al. (2002):

Cyclooxygenase-2 expression as a new marker for patients with colorectal cancer. *Dis. Colon Rectum* 45, 98-103.

YOON, J.H., FEENEY, D.A., JESSEN, C.R., et al. (2007):

External-beam Co-60 radiotherapy for canine nasal tumors: a comparison of survival by treatment protocol. *Res. Vet. Sci.* 84, 140-149.

ZATELLI, M.C., LUCHIN, A., TAGLIATI, F., et al. (2007):

Cyclooxygenase-2 inhibitors prevent the development of chemoresistance phenotype in a breast cancer cell line by inhibiting glycoprotein p-170 expression. *Endocrine-Related Cancer* 14, 1029-1038.

8 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 3-1: Darstellung eines COX-2 negativen Chondrosarkoms	99
Abbildung 3-2: Darstellung eines COX-2 positiven Übergangsepithelkarzinoms	100
Abbildung 3-3: Darstellung eines COX-2 positiven Plattenepithelkarzinoms	101
Abbildung 3-4: Darstellung des mittleren COX-2 Verteilungsscores	104
Abbildung 3-5: Darstellung des mittleren COX-2 Intensitätsscores	104
Abbildung 3-6: Darstellung des mittleren COX-2 Scores	105
Abbildung 3-7: Darstellung der Altersverteilung zu Studienbeginn	109
Abbildung 3-8: Prozentuale Verteilung der Tumorarten	116
Abbildung 3-9: Prozentuale Verteilung der Karzinom-Subtypen	116
Abbildung 3-10: Darstellung der Anzahl COX-2 positiver Tumoren	119
Abbildung 3-11: Darstellung der mittleren Verteilungsscores	119
Abbildung 3-12: Darstellung der mittleren Intensitätsscores	120
Abbildung 3-13: Darstellung der mittleren COX-2 Scores	121
Abbildung 3-14: Darstellung eines pulmonalen weichteildichten Rundherds	122
Abbildung 3-15: Darstellung einer physiologischen Lungenstruktur	122
Abbildung 3-16: Prozentuale Verteilung der initialen Tumorstadien	124
Abbildung 3-17: Tumorstadium I nach Adams et al. (2009)	125
Abbildung 3-18: Tumorstadium III nach Adams et al. (2009)	126
Abbildung 3-19: Tumorstadium IV nach Adams et al. (2009)	126
Abbildung 3-20: Darstellung einer intrathorakalen, weichteildichten Verschattung	137
Abbildung 3-21: Darstellung einer Milz-assoziierten Umfangsvermehrung	139
Abbildung 3-22: Darstellung eines vergrößerter mandibulären Lymphknotens	140
Abbildung 3-23: Therapiewirkung auf ein Undifferenziertes Karzinom	151
Abbildung 3-24: Pergamentartige Haut als Bestrahlungsnebenwirkung	159
Abbildung 3-25: Leukotrichie als Bestrahlungsnebenwirkung	159
Abbildung 3-26: Dermale Bestrahlungsnebenwirkungen	160
Abbildung 3-27: Darstellung des Anteils progressionsfreier Patienten	161
Abbildung 3-28: Darstellung des Anteils progressionsfreier Patienten	166
Abbildung 3-29: Darstellung des Anteils progressionsfreier Patienten	167
Abbildung 3-30: Darstellung des Anteils progressionsfreier Patienten	168
Abbildung 3-31: Darstellung des Anteils progressionsfreier Patienten	169
Abbildung 3-32: Darstellung des Anteils überlebender Patienten über die Zeit	170
Abbildung 3-33: Darstellung des Anteils überlebender Patienten über die Zeit	174
Abbildung 3-34: Darstellung des Anteils überlebender Patienten über die Zeit	176
Abbildung 3-35: Darstellung des Anteils überlebender Patienten über die Zeit	177
Abbildung 3-36: Darstellung des Anteils überlebender Patienten über die Zeit	178
Abbildung 4-1: Vergleichende Darstellung COX-2 positiver Tumoren	200
Abbildung 4-2: Vergleichende Darstellung der mittleren Verteilungsscores	201
Abbildung 4-3: Vergleichende Darstellung der mittleren Intensitätsscores	202
Abbildung 4-4: Vergleichende Darstellung der mittleren COX-2 Scores	203

9 TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 2-1: Stadieneinteilung kaniner sinonasaler Tumoren gemäß WHO	9
Tabelle 2-2: Modifizierte WHO-Stadieneinteilung	10
Tabelle 2-3: Modifizierte WHO-Stadieneinteilung	11
Tabelle 2-4: Biologische Funktionen der Prostanoiden	31
Tabelle 2-5: COX-2/-1 Verhältnis der IC ₅₀ verschiedener Wirkstoffe	46
Tabelle 3-1: Immunhistochemisch untersuchte Tumorarten	76
Tabelle 3-2: Einteilung des COX-2 Verteilungsscores	78
Tabelle 3-3: Einteilung des COX-2 Intensitätsscores	79
Tabelle 3-4: Einteilung des Nasenausflusses in vier Ausprägungsgrade	81
Tabelle 3-5: Stadieneinteilung	86
Tabelle 3-6: Beurteilungskriterien für die Therapiewirkung	91
Tabelle 3-7: Grobe und feine Unterteilung der Tumorarten	96
Tabelle 3-8: Resultate der COX-2 Immunhistochemie	102
Tabelle 3-9: Zweidimensionale Häufigkeitstabelle Verteilungsscore	105
Tabelle 3-10: Zweidimensionale Häufigkeitstabelle Intensitätsscore	106
Tabelle 3-11: Rangordnungsmittelwerte Verteilungsscore	106
Tabelle 3-12: Patientendaten zu Therapiebeginn	108
Tabelle 3-13: Rasseverteilung der Patienten	110
Tabelle 3-14: Initiale klinische Symptomatik der Studienpatienten	111
Tabelle 3-15: Details bezüglich des Nasenausflusses	112
Tabelle 3-16: Initiale Ergebnisse der Tränenproduktion	113
Tabelle 3-17: Initiale neurologische Symptome	113
Tabelle 3-18: Verteilung der Tumorarten in der Patientengruppe	115
Tabelle 3-19: Individuelle Tumorarten und COX-2 Expression	117
Tabelle 3-20: COX-2 Verteilungsscore und Intensitätsscore	118
Tabelle 3-21: Initiale Stadienzuordnung der Studienpatienten	123
Tabelle 3-22: Verteilung der Tumorarten nach Tumorstadium	124
Tabelle 3-23: Verteilung der Tumorarten nach Tumorstadium	125
Tabelle 3-24: Bestrahlungsfelder	129
Tabelle 3-25: Individuell durchgeführte Nachkontrollen	131
Tabelle 3-26: Auswirkung der Meloxicam-Monotherapie	134
Tabelle 3-27: Klinische Symptomveränderung	142
Tabelle 3-28: Änderung des Nasenausflusses	144
Tabelle 3-29: Individuelle Tumolvolumina	152
Tabelle 3-30: Stadieneinteilung der Tumoren zu den Nachkontrollzeitpunkten	154
Tabelle 3-31: Beteiligung der Stirnhöhlen	155
Tabelle 3-32: Progressionsfreie Zeit	162
Tabelle 3-33: Resultate der Cox-Regression	163
Tabelle 3-34: Signifikante Resultate der Cox-Regression	164
Tabelle 3-35: Resultate der Cox-Regression	164
Tabelle 3-36: Signifikante Resultate der Cox-Regression	165
Tabelle 3-37: Mediane progressionsfreie Zeit nach Tumorstadium	165
Tabelle 3-38: Mediane progressionsfreie Zeit nach Tumorart	166
Tabelle 3-39: Mediane progressionsfreie Zeit nach Tumorremission	168
Tabelle 3-40: Überlebenszeiten und Todesursachen	171
Tabelle 3-41: Resultate der Cox-Regression	172
Tabelle 3-42: Signifikante Resultate der Cox-Regression	172
Tabelle 3-43: Resultate der Cox-Regression	173
Tabelle 3-44: Signifikante Resultate der Cox-Regression	173

Tabelle 3-45: Mediane Überlebenszeit nach Tumorstadium	174
Tabelle 3-46: Mediane Überlebenszeit nach Tumorart	175
Tabelle 3-47: Mediane Überlebenszeit nach Tumorremission	177
Tabelle 3-48: Ergebnisse der exakten logistischen Regression	180
Tabelle 3-49: Ergebnisse der exakten logistischen Regression	180
Tabelle 3-50: Ergebnisse der exakten logistischen Regression	181
Tabelle 3-51: Ergebnis der exakten logistischen Regression	181
Tabelle 10-1: Übersicht des statistischen Vergleichs der Tumorarten	265
Tabelle 10-2: Übersicht des statistischen Vergleichs der Tumorarten	265
Tabelle 10-3: Übersicht über Laborergebnisse	266
Tabelle 10-4: Details zur Meloxicam-Gabe und Wirkung	267
Tabelle 10-5: Klinische Symptomänderung nach Bestrahlung	274
Tabelle 10-6: Individuelle akute und chronische Nebenwirkungen	275
Tabelle 10-7: Ergebnisse des Schirmer Tränentests	277
Tabelle 10-8: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung	278
Tabelle 10-9: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung	278
Tabelle 10-10: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung	278
Tabelle 10-11: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung	278
Tabelle 10-12: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung	279
Tabelle 10-13: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung	279
Tabelle 10-14: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung	279
Tabelle 10-15: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung	279
Tabelle 10-16: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung	280
Tabelle 10-17: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung	280
Tabelle 10-18: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung	280
Tabelle 10-19: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung	280
Tabelle 10-20: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung	281
Tabelle 10-21: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung	281
Tabelle 10-22: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung	281
Tabelle 10-23: Progressionsfreie Zeit nach Tumorart	282
Tabelle 10-24: Überlebenszeit nach Tumorart	283
Tabelle 10-25: Gegenüberstellung COX-2 Nachweis intranasaler Karzinome	284
Tabelle 10-26: Details zu partieller Tumorremission nach Meloxicam	285
Tabelle 10-27: Details zu Tumorremission um über 50% nach Bestrahlung	285
Tabelle 10-28: Details zu Patienten mit Überlebenszeiten über 300 Tage	286
Tabelle 10-29: Zusammenfassung publizierter Daten zu palliativer Bestrahlung	287
Tabelle 10-30: Vergleich der medianen Überlebenszeiten der Studienpatienten	289
Tabelle 10-31: Vergleich Tumorstadium, -remission und Überlebenszeit	289

10 Anhang

10.1 Weiterführende Tabellen

Tabelle 10-1: Übersicht des statistischen Vergleichs der Tumorarten bezüglich des COX-2 Verteilungsscores unter Darstellung der Signifikanzlevel (p-Wert), multiple Vergleiche nach Nemenyi

Tumorart 1	Tumorart 2	p-Wert
Adenokarzinom	Chondrosarkom	0,71
Adenokarzinom	Plattenepithelkarzinom	0,23
Adenokarzinom	Übergangsepithelkarzinom	0,83
Adenokarzinom	Undifferenziertes Karzinom	<0,0001*
Chondrosarkom	Plattenepithelkarzinom	0,0066*
Chondrosarkom	Übergangsepithelkarzinom	0,14
Chondrosarkom	Undifferenziertes Karzinom	<0,0001*
Plattenepithelkarzinom	Übergangsepithelkarzinom	0,88
Plattenepithelkarzinom	Undifferenziertes Karzinom	0,16
Übergangsepithelkarzinom	Undifferenziertes Karzinom	0,0097*

Statistische Signifikanz $p \leq 0,05$; * = statistisch signifikanter Wert

Tabelle 10-2: Übersicht des statistischen Vergleichs der Tumorarten bezüglich des COX-2 Intensitätsscores unter Darstellung der Signifikanzlevel (p-Wert), multiple Vergleiche nach Nemenyi

Tumorart 1	Tumorart 2	p-Wert
Adenokarzinom	Chondrosarkom	0,48
Adenokarzinom	Plattenepithelkarzinom	0,86
Adenokarzinom	Übergangsepithelkarzinom	1,00
Adenokarzinom	undifferenziertes Karzinom	1,00
Chondrosarkom	Plattenepithelkarzinom	0,062
Chondrosarkom	Übergangsepithelkarzinom	0,29
Chondrosarkom	undifferenziertes Karzinom	0,21
Plattenepithelkarzinom	Übergangsepithelkarzinom	0,95
Plattenepithelkarzinom	undifferenziertes Karzinom	0,96
Übergangsepithelkarzinom	undifferenziertes Karzinom	1,00

Statistische Signifikanz $p \leq 0,05$

Tabelle 10-3: Übersicht über die von der Norm abweichenden Befunde in der Hämatologie und klinischen Chemie der Studienpatienten (n=25)

Patienten Nr.	Hämatologie	Klinische Chemie
1	Leukozytose 57 G/l (Neutrophilie 52 G/l) Thrombozytose 609 G/l	obB
2	Thrombozytose 684 G/l	obB
3	Leukozytose 18 G/l (Neutrophilie 14 G/l)	obB
4	obB	obB
5	Leukozytose 13 G/l (Neutrophilie 9 G/l) Thrombozytose 566 G/l	ALKP 442 U/l
6	obB	Albumin 2,6 g/dl
7	obB	obB
8	obB	obB
9	Thrombozytose 553 G/l Eosinophilie 1,8 G/l	obB
10	obB	obB
11	Erythrozyten 5 G/l (Hämatokrit 0,35 l/l)	anorganisches Phosphat 5,3 mg/dl
12	Leukozytose 14 G/l (Neutrophilie 10 G/l)	Harnstoff 66 mg/dl
13	Leukozytose 13 G/l (Neutrophilie 11 G/l) Erythrozyten 3,6 G/l (Hämatokrit 0,24 l/l) Thrombozytose 521 G/l	Harnstoff 49 mg/dl
14	Erythrozyten 4 G/l (Hämatokrit 0,31 l/l)	ALT 407 U/l; γ -GT 52 U/l; ALKP 699 U/l; GLDH 41,5 U/l
15	obB	obB
16	Monozytose 2,3 G/l	ALT 145 U/l; ALKP 282 U/l
17	Leukozytose 17 G/l (Neutrophilie 13 G/l)	obB
18	Leukozytose 16 G/l (Neutrophilie 10 G/l; Eosinophilie 1,7 G/l) Thrombozytose 593 G/l	obB
19	Leukozytose 14 G/l (Neutrophilie 11 G/l; Monozytose 1 G/l)	Harnstoff 74 mg/dl
20	Erythrozyten 5 G/l (Hämatokrit 0,34 l/l)	γ -GT 11 U/L
21	obB	obB
22	obB	obB
23	Erythrozyten 4 G/l (Hämatokrit 0,3 l/l)	obB
24	obB	obB
25	obB	Protein 80 g/l; ALKP 174 U/l; GLDH 13 U/l

ALT = Alanin Aminotransferase; ALKP = Alkalische Phosphatase; GLDH = Glutamatdehydrogenase; γ -GT = gamma-Glutamyltransferase

Tabelle 10-4: Individuelle Dauer der Meloxicam-Gabe vor Bestrahlungsbeginn und Auswirkung auf die klinische Symptomatik der Studienpatienten (n=24)

Patienten Nr.	Dauer Meloxicam-Gabe (Tage)	Klinische Symptomatik initial	Klinische Symptomatik nach Meloxicam-Monotherapie zum Zeitpunkt der ersten Bestrahlung	Wirkung
1	21	mgr NA: P, teilw. E; Stridor nasalis; Niesen; Röcheln; Apathie, Epiphora	ggr NA: S; Stridor nasalis, Niesen und Röcheln geringer; besseres AB; Epiphora unverändert	++
2	14	ggr NA: PH; Niesen; Dolenz; subkutane Zubildung	ggr NA: P; Niesen und Dolenz geringer; subkutane Zubildung unverändert	+
3	6	mgr NA: PH; Niesen; Röcheln; Epiphora; subkutane Zubildung	ggr NA: PH; Niesen und Röcheln geringer; subkutane Zubildung unverändert	+
4	21	mgr NA: SH; Niesen; Stridor nasalis; Röcheln; Schlafstörungen	ggr NA: SH; andere Symptome stabil	+
5	18	mgr NA: PH; Niesen; Apathie; Epiphora	Kein NA; Niesen und Röcheln geringer; besseres AB	++
6	17	mgr NA: PH; Niesen; Dolenz; Epiphora; verminderte Retropulsion; subkutane Zubildung 1cm	ggr E; Niesen geringer; subkutane Zubildung 2cm	-
7	14	mgr NA: PH; Niesen; Röcheln; Stridor nasalis	mgr NA: S; Niesen, Röcheln und Stridor nasalis geringer	+
8	15	ggr NA: PH; Niesen; Stridor nasalis; subkutane Zubildung	ggr NA: P; Niesen, Stridor nasalis und subkutane Zubildung unverändert	stabil
9	21	ggr NA: S; einmalig mgr E; Niesen; Stridor nasalis; Würgen; Röcheln; Epiphora; subkutane Zubildung	ggr NA: S; Niesen, Stridor nasalis, Würgen, Röcheln, Epiphora und subkutane Zubildung unverändert	stabil
10	14	mgr NA: PH; Niesen; Epiphora	ggr NA: SH; Niesen und Epiphora unverändert	+
11	9	mgr NA: PH; Niesen; Stridor nasalis; Röcheln; Schlafstörungen	ggr NA: S; einmalig Epistaxis; Niesen, Röcheln und Schlafstörung unverändert; Stridor nasalis progressiv	stabil
12	10	ggr NA: S; Niesen; Hecheln; Epiphora; Orientierungsschwierigkeiten	kein NA; Niesen und Hecheln geringer; Epiphora und Orientierungsschwierigkeiten unverändert	+
13	8	mgr NA: PH; Niesen	ggr NA: P; Niesen geringer, besseres AB	++

Tabelle wird fortgesetzt

Patienten Nr.	Dauer Meloxicam- Gabe (Tage)	Klinische Symptomatik initial	Klinische Symptomatik nach Meloxicam- Monotherapie zum Zeitpunkt der ersten Bestrahlung	Wirkung
14	12	ggr E; Niesen; Röcheln	kein NA; Niesen und Röcheln geringer	++
15	8	hgr NA: PH; Niesen; Stridor nasalis; Würgen; Röcheln	mgr NA: PH; Niesen, Stridor nasalis, Würgen und Röcheln geringer	+
16	17	ggr E; Niesen; Stridor nasalis; Röcheln; Würgen	ggr NA: S; Niesen, Stridor nasalis, Röcheln und Würgen geringer	+
17	9	mgr NA: PH; Niesen; Stridor nasalis; Würgen; Röcheln; Schlafstörungen; Orientierungsschwierigkeiten; Visuseinschränkung	ggr NA: P; Stridor nasalis, Würgen, Röcheln und Schlafstörungen geringer; besseres AB; Orientierungsschwierigkeiten; Visuseinschränkung	++
18	14	mgr NA: PH; Niesen; Stridor nasalis; Epiphora; Würgen; Röcheln; Schlafstörungen	mgr E; Niesen, Stridor nasalis, Epiphora, Würgen und Röcheln unverändert; besseres AB	stabil
19	21	mgr NA: PH; Niesen; Stridor nasalis; Röcheln; Apathie	mgr NA: PH; Niesen, Stridor nasalis, Röcheln und Apathie unverändert	stabil
21	21	ggr NA: P; teilw. E; Niesen; Röcheln	ggr NA: P; keine E; Niesen und Röcheln geringer	+
22	15	kein NA; Niesen; Epiphora; Dolenz; subkutane Zubildung	kein NA; Niesen und Dolenz geringer; Epiphora und subkutane Zubildung unverändert; besseres AB	+
23	26	mgr NA: SH; Niesen	kein NA; Niesen geringer	++
24	12	ggr NA: SH; Niesen	ggr NA: SH; Niesen unverändert	stabil
25	20	mgr NA: SH; Niesen; Stridor nasalis; Röcheln; Hecheln; Apathie	ggr NA: S; Niesen, Stridor nasalis, Röcheln und Hecheln geringer; besseres AB	++

++ = deutliche Verbesserung; + = ggr Verbesserung; - = ggr Verschlechterung; -- = deutliche Verschlechterung der klinischen Symptomatik
NA = Nasenausfluss; S = serös; SH = serös-hämorrhagisch; P = purulent; PH = purulent-hämorrhagisch; E = Epistaxis; AB = Allgemeinbefinden

Tabelle 10-5: Klinische Symptomänderung der Studienpatienten (n=25) zum Zeitpunkt der letzten Bestrahlung im Vergleich zum Vorbefund

Patienten Nr.	Wirkung	Klinische Symptomatik nach Bestrahlung
1	+	NA red., nicht blutig, Stridor unv.
2	+	Kein NA + Niesen
3	+	NA red., nicht blutig
4	+	NA red., nicht blutig, Niesen unv.
5	+	Kein NA, Niesen unv.
6	+	Kein NA
7	+	NA red., nicht blutig, Niesen unv.
8	+	Kein NA, Niesen + Zubildung red.
9	stabil	NA unv., Schwellung unv., Inappetenz
10	+	NA red., nicht blutig
11	+	NA red., nicht blutig
12	+	Kein NA, Orientierungslosigkeit unv.
13	+	NA red., nicht blutig, Stridor red.
14	stabil	Kein NA, Niesen unv.
15	+	NA red., Stridor + Niesen unv.
16	+	NA red., nicht blutig, Niesen unv.
17	+	Kein NA, neurol. Symptome unv.
18	+	NA red., Niesen + Stridor red.
19	+	Kein NA, Niesen + Stridor red.
20	+	Kein NA, Niesen red.
21	-	NA verst., nicht blutig
22	+	Stridor + Niesen red., Schwellung unv.
23	+	symptomfrei
24	stabil	NA stabil
25	+	Kein NA, Stridor + Niesen + Röcheln red.

+ = Verbesserung; - = Verschlechterung; red. = reduziert; unv. = unverändert; verst. = verstärkt; NA = Nasenausfluss

Tabelle 10-6: Individuelle akute und chronische Nebenwirkungen der Bestrahlungstherapie bei den Studienpatienten (n=25)

Patienten Nr.	Augen(anhangsgebilde)		Haut/Fell		Schleimhaut	
	akut	chronisch	akut	chronisch	akut	chronisch
1	Konjunktivitis	mgr verminderte Tränenproduktion	Alopezie periokular	Alopezie, Hyperpigmentation		
2	Konjunktivitis	ggr verminderte Tränenproduktion		Leukotrichie		
3	Konjunktivitis					
4	Konjunktivitis, Blepharospasmus		Dermatitis periokular	Alopezie		Rhinitis
5		"trübes Auge"				
6						
7						
8	ggr verminderte Tränenproduktion	hgr KCS, Enophthalmus, Blepharospasmus		Alopezie periokular, trockener Nasenspiegel		
9	Konjunktivitis	mgr KCS		Leukotrichie		
10	Konjunktivitis		Alopezie periokular			
11	Konjunktivitis					
12	mgr verminderte Tränenproduktion					
13						

Tabelle wird fortgesetzt

Patienten Nr.	Augen(anhangsgebilde)		Haut/Fell		Schleimhaut
	akut	chronisch	akut	chronisch	akut
14		mgr verminderte Tränenproduktion			
15	ggr verminderte Tränenproduktion	hgr-mgr Keratokonjunktivitis sicca, ggr Enophthalmus, Blepharospasmus, Katarakt, temp. Einblutung vordere Augenkammer		Leukotrichie, trockener Nasenspiegel	
16				Leukotrichie, trockener Nasenspiegel	Rhinitis, Gingivitis
17	ggr KCS				
18	Konjunktivitis				
19	mgr verminderte Tränenproduktion	mgr verminderte Tränenproduktion	Alopezie	Alopezie, trockener Nasenspiegel	Gingivitis
20		mgr KCS		trockener Nasenspiegel	
21		temp. ggr verminderte Tränenproduktion			
22	Konjunktivitis	mgr KCS, korneale Pigmentation	Dermatitis, Alopezie und Hyperpigmentation periokular	Alopezie, Hyperpigmentation und Lichenifikation periokular	
23	ggr KCS, Enophthalmus, Blepharospasmus		Alopezie, Dermatitis periokular	Alopezie, Lichenifikation periokular, Leukotrichie	
24	Konjunktivitis			Leukotrichie	
25	Konjunktivitis	mgr KCS	Alopezie	Alopezie, pergamentartige Haut am trockenen Nasenspiegel	

ggr = geringgradig; mgr = mittelgradig; hgr = hochgradig; KCS = Keratokonjunktivitis sicca

Tabelle 10-7: Ergebnisse des Schirmer Tränentests bei allen Studienpatienten (n=25)

Patienten Nr.	Vor erster Bestrahlung		Nach dritter Bestrahlung		1 Monat nach Bestrahlung		2-3 Monate nach Bestrahlung		6 Monate nach Bestrahlung		8-9 Monate nach Bestrahlung		15 Monate nach Bestrahlung	
	links	rechts	links	rechts	links	rechts	links	rechts	links	rechts	links	rechts	links	rechts
	Schirmer Tränentest (mm/min)													
1	>15	>15	>15	>15	>15*	>15*	7*	>15*						
2	>15	>15	>15	>15							>15	14		
3	>15	>15	>15	>15										
4	>15	>15	>15	15										
5	>15	>15	13	>15										
6	>15	>15	>15	>15										
7	>15	>15	>15	>15										
8	>15	>15	14	>15			0	0						
9	>15	>15	>15	>15					7	10				
10	>15	>15	>15	>15	>15	>15								
11	>15	>15	>15	>15										
12	>15	>15	>15	>15	8*	9*								
13	>15	>15	>15	15			>15	>15						
14	>15	>15	>15	>15			>15	>15	5	15				
15	>15	>15	12	12					15	5	15	<5	15	5
16	>15	15	>15	>15										
17	>15	>15	>15	13										
18	>15	>15	>15	>15										
19	8	8	8	8										
20	>15	>15	>15	>15			8	>15			0*	>15*		
21	>15	>15	>15	>15	>15	>15			10	>15	15	15		
22	>15	>15	>15	>15			7	>15	11	15				
23	>15	>15	>15	12	15	10	>15	>15	>15	>15				
24	>15	>15	>15	>15			>15	>15						
25	>15	>15	>15	>15			>15	>15	8	15				

* extern durchgeführter Schirmer Tränentest (Ergebnisübermittlung durch Tierbesitzer oder Überweisungstierarzt)

Tabelle 10-8: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung der Variablen Tumorremission und Tumorart (grob) sowie Ergebnis des exakten Fisher Tests

Tumorremission	Tumorart (grob)		Summe
	Karzinom	Sarkom	
Partielle Remission	5	0	5
Keine Remission	10	9	19
Summe	15	9	24
Exakter Fisher Test (p-Wert)	0,12		

Tabelle 10-9: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung der Variablen Tumorrückgang und Tumorart (fein) sowie Ergebnis des Tests von Fisher nach Freeman-Halton

Tumorremission	Tumorart (fein)				Summe
	Adeno- karzinom	Sonstige Karzinome	Chondro- sarkom	Sonstige Sarkome	
Partielle Remission	2	3	0	0	5
Keine Remission	3	7	5	4	19
Summe	5	10	5	4	24
Test von Fisher nach Freeman-Halton (p-Wert)	0,33				

Tabelle 10-10: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung der Variablen Tumorremission und COX-2 Verteilungsscore

Tumorremission	Verteilungsscore					Summe
	<5%	5-25%	26-50%	51-75%	>75%	
Partielle Remission	0	0	0	2	3	5
Keine Remission	4	7	3	3	3	20
Summe	4	7	3	5	6	25

Tabelle 10-11: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung der Variablen Tumorremission und COX-2 Intensitätsscore

Tumorremission	Intensitätsscore				Summe
	<5%	5-25%	26-50%	>50%	
Partielle Remission	2	2	0	1	5
Keine Remission	7	7	1	1	16
Summe	9	9	1	2	21

Tabelle 10-12: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung der Variablen Tumorremission und COX-2 Score

Tumorremission	COX-2 Score								Summe
	2	3	4	5	6	8	10	20	
Partielle Remission	0	0	1	1	0	1	1	1	5
Keine Remission	3	2	4	0	2	2	3	0	16
Summe	3	2	5	1	2	3	4	1	21

Tabelle 10-13: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung der Variablen Tumorremission und Patientenalter

Tumorremission	Alter (Jahre)			Summe
	≤5	6-10	>10	
Partielle Remission	0	0	5	5
Keine Remission	3	10	7	20
Summe	3	10	12	25

Tabelle 10-14: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung der Variablen Tumorart (grob) und Verteilungsscore

Tumorart (grob)	Verteilungsscore					Summe
	<5%	5-25%	26-50%	51-75%	>75%	
Karzinom	2	3	1	4	5	15
Sarkom	2	3	2	1	1	9
Summe	4	6	3	5	6	24

Tabelle 10-15: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung der Variablen Tumorart (fein) und Verteilungsscore

Tumorart (fein)	Verteilungsscore					Summe
	<5%	5-25%	26-50%	51-75%	>75%	
Adenokarzinom	1	1	0	0	3	5
Sonstige Karzinome	1	2	1	4	2	10
Chondrosarkom	2	2	1	0	0	5
Sonstige Sarkome	0	1	1	1	1	4
Summe	4	6	3	5	6	24

Tabelle 10-16: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung der Variablen Tumorart (grob) und Intensitätsscore

Tumorart (grob)	Intensitätsscore				Summe
	<5%	5-25%	26-50%	>50%	
Karzinom	5	7	0	1	13
Sarkom	4	2	0	1	7
Summe	9	9	0	2	20

Tabelle 10-17: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung der Variablen Tumorart (fein) und Intensitätsscore

Tumorart (fein)	Intensitätsscore				Summe
	<5%	5-25%	26-50%	>50%	
Adenokarzinom	2	1	0	1	4
Sonstige Karzinome	3	6	0	0	9
Chondrosarkom	1	1	0	1	3
Sonstige Sarkome	3	1	0	0	4
Summe	9	9	0	2	20

Tabelle 10-18: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung der Variablen Tumorart (grob) und COX-2 Score

Tumorart (grob)	COX-2 Score								Summe
	2	3	4	5	6	8	10	20	
Karzinom	2	0	3	1	1	2	3	1	13
Sarkom	1	2	2	0	0	1	1	0	7
Summe	3	2	5	1	1	3	4	1	20

Tabelle 10-19: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung der Variablen Tumorart (fein) und COX-2 Score

Tumorart (fein)	COX-2 Score								Summe
	2	3	4	5	6	8	10	20	
Adenokarzinom	1	0	0	1	0	0	1	1	4
Sonstige Karzinome	1	0	3	0	1	2	2	0	9
Chondrosarkom	0	1	1	0	0	1	0	0	3
Sonstige Sarkome	1	1	1	0	0	0	1	0	4
Summe	3	2	5	1	1	3	4	1	20

Tabelle 10-20: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung der Variablen Tumorstadium und Verteilungsscore

Tumorstadium	Verteilungsscore					Summe
	<5%	5-25%	26-50%	51-75%	>75%	
Stadium I	1	1	0	2	3	7
Stadium III	2	5	2	1	0	10
Stadium IV	1	1	1	2	3	8
Summe	4	7	3	5	6	25

Tabelle 10-21: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung der Variablen Tumorstadium und Intensitätsscore

Tumorstadium	Intensitätsscore				Summe
	<5%	5-25%	26-50%	>50%	
Stadium I	2	4	0	0	6
Stadium III	5	1	1	1	8
Stadium IV	2	4	0	1	7
Summe	9	9	1	2	21

Tabelle 10-22: Zweidimensionale Häufigkeitsauszählung der Variablen Tumorstadium und COX-2 Score

Tumorstadium	COX-2 Score								Summe
	2	3	4	5	6	8	10	20	
Stadium I	0	0	2	1	0	1	2	0	6
Stadium III	3	1	1	0	2	1	0	0	8
Stadium IV	0	1	2	0	0	1	2	1	7
Summe	3	2	5	1	2	3	4	1	21

Tabelle 10-23: Zusammenfassung der individuellen progressionsfreien Zeiten, Medianwerte und Streubreiten nach feiner Unterteilung der Tumorarten

Tumorart	Progressionsfreie Zeit (Tage)		
	Anzahl	Individuell	Medianwert
Adenokarzinom n=5		0	
		136	
		175	156
		188	
		212	0-212
Sonstige Karzinome n= 10		35	
		55	
		105	
		142	
		147	147
		157	
		207	35-545
		398*	
		459*	
		545	
Chondrosarkom n=5		53	
		69	
		100	85
		103	
		149	53-149
Sonstige Sarkome n=4		51	
		181	
		365*	181
		468*	51-468*

* zensierte Daten (keine Symptomprogression zum Studienende)

Tabelle 10-24: Zusammenfassung der individuellen Überlebenszeiten, Medianwerte und Streubreiten nach feiner Unterteilung der Tumorarten

Tumorart	Überlebenszeit (Tage)		
	Anzahl	Individuell	Medianwert
Adenokarzinom n=5		78	
		188	
		234	211
		267	
		354	78-354
Sonstige Karzinome n=10		107	
		175	
		184	
		197	
		199	197
		241	
		329	
		401*	107-639*
		461*	
		639*	
Chondrosarkom n=5		74	
		96	
		141	170
		229	
		392	74-392
Sonstige Sarkome n=4		57	
		309	
		365*	309
		470*	57-470*

* zensierte Daten (nicht verstorben zum Studienendpunkt)

Tabelle 10-25: Ergebnisse des immunhistochemischen COX-2 Nachweises bei kaninen intranasalen Karzinomen

Tumortart	Klinische Anwendungsstudie				Borzacchiello et al., 2004		Kleiter et al., 2004		Impellizeri und Esplin, 2007	
	Proben-anzahl (COX-2-positiv)	Mittelwert Verteilungs-score ^a	Mittelwert Intensitäts-score ^a	Mittelwert COX-2 score ^a	Proben-anzahl (COX-2-positiv)	Intensität COX-2 Expression	Proben-anzahl (COX-2-positiv)	Mittelwert COX-2 Score ^c	Proben-anzahl (COX-2-positiv)	COX-2- positive Zellen (%): Mittelwert (Spannweite)
Adenokarzinom	5 (4)	3,4	2	9,3	6 (6)	stark n=3 mittel n=2 schwach n=1	11 (8)	6,6	10 (8)	40% (10-90%)
Plattenepithelkarzinom	1 (1)	2	2	4			4 (4)	11,3	1 (1)	95%
Übergangsepithelkarzinom	2 (1)	2,5	2	8	5 (4)	mittel n=3 schwach n=1				
Undifferenziertes Karzinom	7 (7)	3,9	1,6	6,3	4 (3)	mittel n=1 schwach n=2	6 (5) ^b	6 ^b	13 (8) ^b	46% (0-90%)

^a Einteilung des Verteilungsscores: 1=<5%; 2=5-25%; 3=26-50%; 4=51-75%; 5=>75%; Einteilung des Intensitätsscores: 1=<5%; 2=5-25%; 3=26-50%; 4=>50%; COX-2 Score: Produkt aus

Verteilungs- und Intensitätsscore (Werte von 1-20 möglich)

^b Zusammenfassende Betrachtung von Übergangsepithelkarzinomen und Undifferenzierten Karzinomen

^c Einteilung des Verteilungsscores: 0 = <1%; 1 = 1-10%; 2 = 10-50%; 3 = >50%; Einteilung des Intensitätsscores: Skala von 0 (fehlend) bis 4 (stark); COX-2 Score: Produkt aus Verteilungs- und Intensitätsscore (Werte von 0-12 möglich)

Tabelle 10-26: Details zu Patienten (n=5) mit partieller Tumorremission nach Monotherapie mit Meloxicam

Patienten Nr.	Tumorremission (%)	Dauer der Meloxicam-Gabe (Tage)	Tumorart	COX-2 Verteilungsscore ^a	COX-2 Score ^b	Tumorstadium
2	12	14	Undifferenziertes Karzinom	4	4	III
14	42	12	Adenokarzinom	5	20	IV
16	13	17	Übergangsepithelkarzinom	4	8	I
23	75	26	Undifferenziertes Karzinom	2	10	I
25	40	20	Adenokarzinom	5	5	I

^a 1 = <5%; 2 = 5-25%; 3 = 26-50%; 4 = 51-75%; 5 = >75% der Gesamtzellzahl COX-2 positiv

^b COX-2 Score: Produkt aus Verteilungs- und Intensitätsscore (Werte von 1-20 möglich)

Tabelle 10-27: Details zu Patienten (n=11) mit partieller Tumorremission um über 50% nach Abschluss der Bestrahlungstherapie

Patienten Nr.	Tumorremission (%)	Kontrollzeitpunkt max. Remission nach Bestrahlung	Tumorart	COX-2 Verteilungsscore ^a	COX-2 Score	Tumorstadium
1	65	unmittelbar	Undifferenziertes Karzinom	3	6	III
2	62	unmittelbar	Undifferenziertes Karzinom	4	4	III
6	51	unmittelbar	Ästhesioneuroblastom	2	6	III
14	66	unmittelbar	Adenokarzinom	5	20	IV
15	51	6 Monate	Undifferenziertes Karzinom	2	2	III
16	53	unmittelbar	Übergangsepithelkarzinom	4	8	I
17	80	unmittelbar	Undifferenziertes Karzinom	5	10	IV
20	91	3 Monate	Übergangsepithelkarzinom	1		I
23	91	unmittelbar	Undifferenziertes Karzinom	5	10	I
24	96	3 Monate	Undifferenziertes Sarkom	4	4	I
25	63	3 Monate	Adenokarzinom	5	5	I

^a 1 = <5%; 2 = 5-25%; 3 = 26-50%; 4 = 51-75%; 5 = >75% der Gesamtzellzahl positiv

max. = maximaler

Tabelle 10-28: Zusammenfassung ausgewählter Daten der Patienten (n=9) mit Überlebenszeiten (ÜZ) von über 300 Tagen

Patienten Nr.	ÜZ (Tage)	Tumorart	COX-2 Verteilungs-score ^a	COX-2 Intensitäts-score ^a	COX-2 Score ^a	Tumorstadium
2	329	Undiff. Karzinom	4	1	4	III
9	392	Chondrosarkom	1	0	0	III
15	639*	Undiff. Karzinom	2	1	2	III
20	461*	Übergangs-epithelkarzinom	1	0	0	I
21	470*	Undiff. Sarkom	5	2	10	I
22	309	Osteosarkom	2	1	2	III
23	401*	Undiff. Karzinom	5	2	10	I
24	365*	Undiff. Sarkom	4	1	4	I
25	354	Adenokarzinom	5	1	5	I

* zensierte Daten, da Patienten zum Studienendpunkt noch nicht verstorben waren

^a Einteilung des Verteilungsscores: 1=<5%; 2=5-25%; 3=26-50%; 4=51-75%; 5=>75%; Einteilung des Intensitätsscores:

1=<5%; 2=5-25%; 3=26-50%; 4=>50%; COX-2 Score: Produkt aus Verteilungs- und Intensitätsscore

undiff. = undifferenziert

Farbkodierung:

Patienten mit partieller Tumorremission nach initialer Meloxicam-Monotherapie

Tabelle 10-29: Zusammenfassende Darstellung publizierter Daten zu hypofraktioniert bestrahlten Hunden mit intranasalen Tumoren vergleichend zu den Daten der klinischen Anwendungsstudie

Anzahl behandel-ter Hunde	Bestrahlungs-dosis Fraktionierung	Mediane Überlebenszeit (Tage)	Tumor-stadium	Tumorart	Prognostische Faktoren	Sonstiges	Autor
12	36 Gy 4 x 9 Gy	63 Wochen		8% Adenokarzinome 48% Sonstige Karzinome 8% Chondrosarkome 32% Sonstige Sarkome	Kein Unterschied zwischen Tumorarten	Megavoltage n=11; Orthovoltage n=1; nur dorsales Bestrahlungsfeld ; keine Computertomographie	MORRIS et al., 1994
56	36 Gy 4 x 9 Gy	212	73% unilaterale Tumoren; 23% Knochen-destruktion	32% Adenokarzinome 46% Sonstige Karzinome 2% Chondrosarkome 18% Sonstige Sarkome	Nicht signifikant: Tumorart, Alter, Symptombeginn vor Therapiebeginn	Megavoltage; nur dorsales Bestrahlungsfeld ; keine Computertomographie	MELLANBY et al., 2002
9	20-32 Gy 3-5 x 4-8 Gy	Streu- breite: 60 bis >300	III n=7 IV n=2^a	22% Adenokarzinome 11% Sonstige Karzinome 11% Chondrosarkome 56% Sonstige Sarkome		Megavoltage; divergierende Bestrahlungsfelder; Computertomographie	SCHWIE-TZER et al., 2005
12	26-36 Gy 3-6 x 4,7-10 Gy	259		17% Adenokarzinome 17% Sonstige Karzinome 17% Sonstige Sarkome 33% Andere^c	Nicht signifikant: Tumorart, aber Fibrosarkome mit besten Resultaten; adjuvante Chirurgie	Megavoltage; divergierende Bestrahlungsfelder; n=2 zusätzlich Chirurgie ; keine Computertomographie	YOON et al., 2007
48	median 24 Gy 3 x 8 Gy	146	I n=4 II n=6 III n=10 IV n=22 ^b	100% Karzinome	Signifikant: ↓ PFZ und ÜZ bei <90 Tagen Symptomatik vor Therapiebeginn; ↓ ÜZ bei unvollständigem Symptommrückgang (42 vs. 255 Tage)	Megavoltage; überwiegend divergierende Bestrahlungsfelder; Computertomographie	GIEGER et al., 2008

Tabelle wird fortgesetzt

Anzahl behandel-ter Hunde	Bestrahlungs-dosis Fraktionierung	Mediane Überlebenszeit (Tage)	Tumorstadium	Tumorart	Prognostische Faktoren	Sonstiges	Autor
25	24 Gy 3 x 8 Gy	156	I n=9 III n=7 IV n=9 ^a	40% Karzinome 4% Chondrosarkome 36% Sonstige Sarkome 20% Ästhesio-neuroblastome	Signifikant: Tumorremission Nicht signifikant: Rasse; Alter; Geschlecht; Tumorart; Tumorstadium	Megavoltage; divergierende Bestrahlungsfelder; Computertomographie; Adjuvante Chemotherapie	SCHWIE-TZER, 2008
39	Unbekannt 3-4 Fraktionen	214		100% Karzinome	Nicht signifikant: COX-2 Expression	Kein signifikanter Unterschied in der Überlebenszeit zu Meloxicam- und Antibiotika-therapierten Hunden	BELSHAW et al., 2009
63	median 32 Gy 4 x 8 Gy	197	II n=1; III n=17; IV n=35 ^b	46% Adenokarzinome 25% Sonstige Karzinome 3% Chondrosarkome 13% Sonstige Sarkome 13% Andere ^d	Nicht signifikant: Tumorstadium; Dauer klinische Symptomatik; Gesichtsdeformation; Alter; Gewicht; Bestrahlungsnebenwirkungen	Megavoltage; divergierende Bestrahlungsfelder rostral und kaudal unterteilt Computertomographie nach 1 Monat: komplette Remission (n=3), partielle Remission (n=16); stabil (n=10), Progression (n=1)	MARUO et al., 2010
25	24 Gy 3 x 8 Gy	214	I n=7 III n=10 IV n=8 ^a	20% Adenokarzinome 40% Sonstige Karzinome 20% Chondrosarkome 16% Sonstige Sarkome 4% Ästhesio-neuroblastome	Signifikant: Tumorstadium; Tumorart (PFZ)	Megavoltage; divergierende Bestrahlungsfelder; Computertomographie	Vor-liegende Unter-suchung

^a nach ADAMS et al., 2009

^b nach ADAMS et al., 1998

^c ein Mastzelltumor und Talgdrüsentumor, zwei unklassifizierte Tumoren

^d undifferenzierte Tumoren

↓ kürzer; PFZ = progressionsfreie Zeit; ÜZ = Überlebenszeit

Fettdruck = Unterschiede, die eine Vergleichbarkeit einschränken

Tabelle 10-30: Vergleich der medianen Überlebenszeiten der Studienpatienten (n=25) in Bezug auf die Tumorstadien

Tumorstadium	Patientenzahl (zensiert)	Überlebenszeit	
		Medianwert (Tage)	Streubreite (Tage)
I	7 (5)	Nicht berechnet ^a	96-470*
III	10 (2)	254	57-639*
IV	8 (0)	141	74-234

* zensierte Daten, da Patienten zum Studienendpunkt noch nicht verstorben sind

^a Medianwert für Patienten in Tumorstadium I aufgrund des hohen Zensierungsgrades der Daten nicht berechenbar

Tabelle 10-31: Zusammenfassung der initialen Tumorstadien und der korrespondierenden maximalen Tumorremission nach Abschluss der Bestrahlungstherapie sowie der Überlebenszeit aller Studienpatienten (n=25)

Patienten Nr.	Tumorstadium initial	Maximaler Tumorrückgang nach Bestrahlung (%) ^a	Überlebenszeit
1	III	65	241
2	III	62	329
3	IV	27	107
4	III	14	267
5	IV	13	197
6	III	51	80
7	IV	25	78
8	III	44	229
9	III	0	392
10	I	18	96
11	III	0	199
12	IV	0	74
13	IV	0	141
14	IV	56	188
15	III	51	639*
16	I	53	184
17	IV	80	175
18	III	19	57
19	IV	23	234
20	I	91	461*
21	I	44	470*
22	III	38	309
23	I	91	401*
24	I	96	365*
25	I	63	354
Mittelwert	Stadium I	65	
	Stadium III	34	
	Stadium IV	28	

* zensierte Daten, da Patienten zum Studienendpunkt noch nicht verstorben waren

^a abhängig von den durchgeführten Nachkontrollen der Patienten

11 Erklärung

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Annalena Michel

12 Danksagung

Die Erstellung meiner Doktorarbeit wäre ohne die Unterstützung vieler netter und hilfsbereiter Kollegen, Betreuer und Freunde nicht möglich gewesen.

In erster Linie möchte ich mich ganz herzlich bei meiner Betreuerin Frau PD Dr. Sabine Tacke bedanken, die mir stets fördernd und helfend zur Seite stand.

Mein ganz besonderer Dank gebührt Dr. Martin Kessler für seine ansteckende Begeisterung für die Onkologie, die mir erst den Weg in dieses interessante Fachgebiet eröffnet hat. Vielen Dank für meine umfassende Förderung, deine Loyalität und immer vorhandene Hilfsbereitschaft.

Meinen ehemaligen Kolleginnen Dr. Bettina Kandel-Tschiederer und Dr. Anke Schwietzer danke ich herzlich für die geduldige Einführung in die Klinische Onkologie und insbesondere die Strahlentherapie. Ebenso gilt mein Dank Herrn Dr. Markus Tassani-Prell für die Unterstützung im Rahmen der Bildgebenden Diagnostik. Vielen Dank auch an alle anderen Mitarbeiter der Kleintierklinik Hofheim für die drei schönen gemeinsamen Jahre!

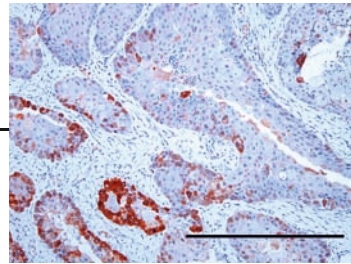
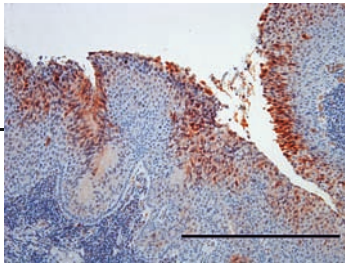
Herrn Dr. Wolf von Bomhard habe ich die umfangreichen Daten zur COX-2 Immunhistochemie zu verdanken. Vielen Dank für deren Beurteilung und die kollegiale Zusammenarbeit. Herrn Prof. Guscetti und Mitarbeitern danke ich für die Durchführung der Immunhistochemischen Färbung unserer Präparate.

Mein spezieller Dank gebührt zudem dem Unternehmen Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH und meinem dortigen Betreuer, Herrn Reinhard Seffner, für die finanzielle und fachliche Unterstützung sowie meine persönliche Förderung.

Für die Einführung in die Anwendung der Visualisierungssoftware Amira[®] danke ich Herrn Dr. Martin Schmidt der Kleintierklinik Gießen.

Herrn Dr. Klaus Failing danke ich für die Durchführung, Erklärung und Beratung der aufwendigen statistischen Auswertung meiner Studiendaten sowie Frau Marion Sparenberg für deren Unterstützung.

Letztendlich gilt mein ganz persönlicher Dank meiner Familie, meinem Freund Olaf, dessen Familie und meinen guten Freundinnen (insbesondere den zwei Ch/Kristinas und Rebekka). Danke, dass ihr immer für mich da wart und seid!



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-5906-4



9 17 8 3 8 3 5 19 5 9 0 6 4 1